

Số: /QĐ-BYT

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

QUYẾT ĐỊNH
Về việc ban hành tài liệu chuyên môn
“Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng - Tập 1”

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Luật Khám bệnh, chữa bệnh năm 2023;

Căn cứ Nghị định số 42/2025/NĐ-CP ngày 27/02/2025 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Căn cứ Thông tư số 23/2024/TT-BYT ngày 18/10/2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh;

Căn cứ Biên bản họp ngày 21/3/2024 của Hội đồng chuyên môn nghiệm thu quy trình kỹ thuật về Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng; Biên bản họp ngày 15/7/2025 về xây dựng định mức kinh tế - kỹ thuật dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh về Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng và công văn số 4698/BM-KHTH ngày 21/7/2025 của Bệnh viện Bạch Mai gửi Cục QLKCB dự thảo quy trình kỹ thuật về Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng đã được Chủ tịch Hội đồng nghiệm thu duyệt dự thảo;

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

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này Tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng - Tập 1”, gồm 96 quy trình kỹ thuật.

Điều 2. Tài liệu chuyên môn “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng - Tập 1” được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

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

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

Nơi nhận:

- Như Điều 4;
- Bộ trưởng (để báo cáo);
- Các Thứ trưởng;
- BHXHVN - Bộ Tài chính;
- Cổng thông tin điện tử Bộ Y tế;
- Website Cục QLKCB;
- Tổng hội Y học Việt Nam và các hội y khoa;
- Lưu: VT, KCB.

KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG

Trần Văn Thuận



HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT VỀ DỊCH - MIỄN DỊCH LÂM SÀNG - TẬP 1

(Ban hành kèm theo Quyết định số /QĐ-BYT
ngày tháng năm 2025 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

Hà Nội, 2025

DANH SÁCH BAN SOẠN THẢO

Chỉ đạo biên soạn, thẩm định	
GS.TS. Trần Văn Thuấn	Thứ trưởng Bộ Y tế
TS. Hà Anh Đức	Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh (QLKCB)
Chủ biên	
TS. Nguyễn Hoàng Phương	Giám đốc Trung tâm Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng Bệnh viện Bạch Mai, Phó trưởng Bộ môn Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng, Trường Đại học Y Hà Nội, Chủ tịch Hội Hen, Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng Việt Nam
TS. Vương Ánh Dương	Phó Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh
Tham gia biên soạn, thẩm định	
TS. Phạm Huy Thông	Phó Giám đốc Trung tâm Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng Bệnh viện Bạch Mai, Tổng Thư ký Hội Hen, Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng Việt Nam
TS. Nguyễn Hữu Trường	Trung tâm Dự ứng Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai
BS. Chu Chí Hiếu	Trung tâm Dự ứng Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai
KS. Phan Ngọc Bích	Kỹ thuật viên trưởng Trung tâm Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai
TS. Nguyễn Lan Anh	Giám đốc Trung tâm Da liễu - Dự ứng, Chủ nhiệm khoa Dự ứng Bệnh viện Trung ương Quân đội 108
TS. Bùi Văn Dân	Trưởng khoa Da liễu - Dự ứng Bệnh viện E
TS. Nguyễn Văn Đĩnh	Trưởng khoa Nội chung, Trưởng Đơn vị Dự ứng, Bệnh viện Vinmec Times City
PGS.TS. Phan Quang Đoàn	Nguyên trưởng Bộ môn Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng, Trường Đại học Y Hà Nội
PGS.TS. Nguyễn Văn Đoàn	Nguyên Giám đốc trung tâm Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng Bệnh viện Bạch Mai, nguyên Trưởng Bộ môn Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng, Trường Đại học Y Hà Nội
ThS. Nguyễn Thị Thanh Hà	Trưởng phòng Chế độ bảo hiểm y tế, Ban Thực hiện chính sách bảo hiểm y tế, Bảo hiểm xã hội Việt Nam
PGS.TS. Trần Thúy Hạnh	Nguyên Giám đốc Bệnh viện Bạch Mai, Phó Chủ tịch Hội Hen, Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng Việt Nam
ThS. Vũ Thị Hằng	Trung tâm Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai
PGS.TS. Trịnh Mạnh Hùng	Nguyên Phó trưởng khoa Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai, nguyên Trưởng khoa Dự ứng - Hô hấp, Bệnh viện Hữu Nghị
TS. Bùi Văn Khánh	Trung tâm Dự ứng - Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai
PGS.TS. Hoàng Thị Lâm	Bệnh viện Tâm Anh thành phố Hồ Chí Minh

PGS.TS. Đặng Hùng Minh	Phó trưởng khoa Khám bệnh, Bệnh viện Bạch Mai
ThS. Trương Lê Văn Ngọc	Trưởng phòng Nghiệp vụ, Cục QLKCB
ThS. Nguyễn Như Nguyệt	Trung tâm Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai
TS. Trương Thái Phương	Trưởng khoa Vi sinh, Bệnh viện Bạch Mai
BSCKII. Trần Thái Sơn	Trưởng khoa Da Liễu, Bệnh viện Bạch Mai
PGS.TS. Lê Đình Tùng	Phó Hiệu trưởng Trường Đại học Y Hà Nội, Phụ trách Bộ môn Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng Trường Đại học Y Hà Nội
GS.TS. Vũ Thị Minh Thục	Nguyên Trưởng khoa Dị ứng, Bệnh viện Tai Mũi Họng Trung ương
GS.TS. Phạm Văn Thúc	Nguyên Hiệu trưởng Đại học Y Dược Hải Phòng, Chủ tịch Hội Miễn dịch trị liệu ung thư Việt Nam
PGS.TS. Nguyễn Thị Vân	Nguyên Giảng viên cao cấp bộ môn Dị ứng miễn dịch lâm sàng, Trường Đại học Y Hà Nội Hà Nội
Thư ký	
KS. Phan Ngọc Bích	Kỹ thuật viên trưởng Trung tâm Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai
CN. Vũ Thị Dung	Trung tâm Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai
CN. Nguyễn Thị Hoa	Trung tâm Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai
BSCKI. Đoàn Quang Hiệt	Chuyên viên Phòng Phục hồi chức năng và Giám định, Cục QLKCB
ThS. Nguyễn Minh Hoàng	Trung tâm Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai
DS. Đỗ Thị Ngát	Chuyên viên phòng Nghiệp vụ, Cục QLKCB
BSCKII. Cao Đức Phương	Chuyên viên chính Phòng Quản lý Hành nghề khám bệnh, chữa bệnh, Cục QLKCB
ThS. Đỗ Thị Huyền Trang	Cục Quản lý Khám, chữa bệnh

LỜI NÓI ĐẦU

Hướng dẫn quy trình kỹ thuật là tài liệu chuyên môn hướng dẫn thực hiện kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh trên lâm sàng, đồng thời là tài liệu để hỗ trợ công tác giảng dạy, đào tạo thực hiện kỹ thuật. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật được Bộ Y tế ban hành nhằm chuẩn hóa thực hiện quy trình kỹ thuật tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh. Đây là công cụ để làm căn cứ đánh giá sự tuân thủ thực hiện kỹ thuật hoặc kiểm định lâm sàng, xác định rõ các hoạt động cần phải thực hiện, phân công rõ trách nhiệm, kiểm tra giám sát và bố trí hợp lý nguồn lực, giảm thiểu tối đa biến cố bất lợi.

Để chuẩn hóa quy trình kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh về Dị ứng - Miễn dịch, Bộ Y tế đã giao bệnh viện Bạch Mai làm đầu mối xây dựng Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật về Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng cùng các bệnh viện E, bệnh viện Nhi Trung ương, bệnh viện 108,... Các bệnh viện được giao đã huy động và phân công các giáo sư, phó giáo sư, tiến sĩ, bác sĩ chuyên khoa Dị ứng – Miễn dịch lâm sàng biên soạn Hướng dẫn quy trình kỹ thuật; tổ chức họp hội đồng khoa học trong bệnh viện để nghiệm thu; biên tập, hoàn thiện theo ý kiến của Hội đồng chuyên môn nghiệm thu do Bộ Y tế thành lập và chịu trách nhiệm về chuyên môn kỹ thuật quy định trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật được các thành viên biên soạn rà soát trên các hướng dẫn hiện có, tham khảo các tài liệu trong nước, nước ngoài để cập nhật.

Bộ Y tế đã thành lập Hội đồng chuyên môn nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng với sự tham gia của một số Vụ, Cục chức năng của Bộ Y tế, các chuyên gia hàng đầu về Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng. Các thành viên chuyên môn đã làm việc với tinh thần trách nhiệm, đóng góp về thời gian, trí tuệ, kinh nghiệm để góp ý, nghiệm thu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật.

Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật về Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng - Tập 1 được xây dựng cho các kỹ thuật có trong Phụ lục số 02 đồng thời có tên (trùng hoặc tên khác nhưng bản chất kỹ thuật và quy trình kỹ thuật thực hiện giống nhau) trong Phụ lục số 01 (của Thông tư số 23/2024/TT-BYT ngày 18 tháng 10 năm 2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành danh mục kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh) đã được Hội đồng chuyên môn nghiệm thu với tổng số 96 quy trình kỹ thuật.

Bộ Y tế xin trân trọng cảm ơn sự đóng góp tích cực và hiệu quả của các chuyên gia về Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng, đặc biệt là tập thể lãnh đạo và nhóm thư ký biên soạn và nghiệm thu của Trung tâm Dị ứng - Miễn dịch, Bệnh viện Bạch Mai.

Trong quá trình biên tập khó tránh được những sai sót, chúng tôi rất mong nhận được sự đóng góp ý kiến từ quý độc giả đồng nghiệp để Tài liệu chuyên môn ngày một hoàn thiện hơn. Mọi ý kiến góp ý xin gửi về Cục Quản lý Khám, chữa bệnh - Bộ Y tế, 138A phố Giảng Võ, phường Giảng Võ, Hà Nội.

Xin trân trọng cảm ơn!

GS.TS. Trần Văn Thuận
THỨ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

NGUYÊN TẮC ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT

1. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật được xây dựng và ban hành theo từng chương, chuyên ngành; bao gồm các quy định về chỉ định, chống chỉ định, thận trọng, chuẩn bị thực hiện kỹ thuật, đến các bước thực hiện theo trình tự từ khi bắt đầu đến khi kết thúc thực hiện kỹ thuật.

2. Tài liệu chuyên môn Hướng dẫn quy trình kỹ thuật về Dị ứng-Miễn dịch lâm sàng – Tập 1 được xây dựng và ban hành cho các kỹ thuật có trong Phụ lục số 02 Thông tư số 23/2024/TT-BYT đồng thời có tên (trùng hoặc tên khác nhưng bản chất kỹ thuật và quy trình kỹ thuật thực hiện giống nhau) trong Phụ lục số 01 Thông tư số 23/2024/TT-BYT. Quy trình kỹ thuật của kỹ thuật có tên trong cột số 3 được áp dụng đối với các kỹ thuật có tên trong cột số 5 của Phụ lục về Danh mục kỹ thuật được ban hành kèm theo Quyết định này.

3. Quy định về thời gian thực hiện kỹ thuật, nhân lực (chức danh chuyên môn nghề nghiệp, số lượng nhân lực), thuốc, thiết bị y tế... trong Hướng dẫn quy trình kỹ thuật do Bộ Y tế ban hành dựa trên tính phổ biến, thường quy thực hiện tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh. Trong thực tế triển khai, căn cứ diễn biến lâm sàng, tình trạng người bệnh, điều kiện thực tế của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, việc triển khai kỹ thuật có thể cần huy động thêm nhân lực chuyên môn, bổ sung thuốc, thiết bị y tế..., tăng thời gian thực hiện kỹ thuật...

4. Chỉ sử dụng các thuốc, thiết bị y tế... được cấp phép lưu hành theo quy định hiện hành.

5. Trong quá trình triển khai áp dụng Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, nếu thấy các bất cập hoặc nhu cầu cần sửa đổi, bổ sung, các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chủ động cập nhật và ban hành Hướng dẫn quy trình kỹ thuật, đồng thời báo cáo, đề xuất Bộ Y tế (Cục QLKCB) về việc cập nhật để ban hành áp dụng trong cả nước.

MỤC LỤC

LỜI NÓI ĐẦU

NGUYÊN TẮC ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT PHỤ LỤC: DANH MỤC KỸ THUẬT VỀ DỊ ỨNG - MIỄN DỊCH LÂM SÀNG

DANH MỤC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

1. Định lượng kháng thể kháng chuỗi kép DNA.....	1
2. Định lượng kháng thể kháng nhân ANA.....	10
3. Định lượng kháng thể kháng Phospholipid IgG/IgM.....	19
4. Định lượng kháng thể kháng Cardiolipin IgG/IgM.....	28
5. Định lượng kháng thể kháng Beta2 - glycoprotein IgG/IgM.....	37
6. Định lượng kháng thể kháng tương bào bạch cầu đa nhân trung tính (ANCA)....	46
7. Định lượng kháng thể kháng ty lạp thể(AMA-M2)	55
8. Định lượng kháng thể kháng tương bào gan type1 (LC1)	64
9. Định lượng kháng thể kháng tiểu vi thể gan thận type1 (LKM1)	73
10. Định lượng kháng thể kháng thụ thể GLYCOPROTEIN trên màng tế bào gan người châu Á (ASGPR).....	82
11. Định lượng ERYTHROPOIEIN (EPO)	91
12. Định lượng kháng thể kháng Scl-70.....	100
13. Định lượng kháng thể kháng Jo - 1	109
14. Định lượng kháng thể kháng Histone.....	118
15. Định lượng kháng thể kháng Sm.....	127
16. Định lượng kháng thể kháng SS-A(Ro)	136
17. Định lượng kháng thể kháng SS-B (La).....	145
18. Định lượng kháng thể kháng SSA - p200.....	154
19. Định lượng kháng thể kháng Prothrombin.....	163
20. Định lượng kháng thể kháng RNP - 70.....	172
21. Định lượng MPO (PANCA).....	181
22. Định lượng PR3 (cANCA)	190
23. Định lượng kháng thể kháng Insulin	199
24. Định lượng kháng thể kháng CCP.....	208
25. Định lượng kháng thể kháng Centromere	217
26. Định lượng kháng thể C1INH	226
27. Định lượng kháng thể GBM ab	235
28. Định lượng Tryptase.....	244
29. Định lượng kháng thể kháng tinh trùng.....	253
30. Định lượng kháng thể kháng tiểu cầu.....	262
31. Định lượng kháng thể kháng ENA	271
32. Định lượng Histamine	280

33. Định lượng kháng thể kháng C1q.....	289
34. Định lượng kháng thể kháng C3a.....	298
35. Định lượng kháng thể kháng C3bi	307
36. Định lượng kháng thể kháng C3d.....	316
37. Định lượng kháng thể kháng C4a.....	325
38. Phát hiện kháng thể kháng nhân bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang	334
39. Phát hiện các tự kháng thể trong bệnh tự miễn bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang	344
40. Các tự kháng thể trong Viêm cơ tự miễn bằng kỹ thuật sắc ký thanh giấy (18 loại)	354
41. Các tự kháng thể trong Viêm gan tự miễn bằng kỹ thuật sắc ký thanh giấy (14 loại)	362
42. Định lượng kháng thể kháng C5a.....	370
43. Định lượng kháng thể IgG1.....	379
44. Định lượng kháng thể IgG2.....	386
45. Định lượng kháng thể IgG3.....	393
46. Định lượng kháng thể IgG4.....	400
47. Định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên hô hấp (đối với 1 dị nguyên).....	407
48. Định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên thức ăn (đối với 1 dị nguyên)	414
49. Định lượng IgE đặc hiệu chẩn đoán dị ứng thuốc (đối với 1 loại thuốc).....	421
50. Định lượng ELISA chẩn đoán dị ứng thuốc (đối với 1 loại thuốc).....	429
51. Định lượng Interleukin - 1 α human.....	438
52. Định lượng Interleukin - 1 β human.....	447
53. Định lượng Interleukin - 2 human.....	456
54. Định lượng Interleukin - 4 human.....	465
55. Định lượng Interleukin - 6 human.....	474
56. Định lượng Interleukin - 8 human.....	483
57. Định lượng Interleukin - 10 human.....	492
58. Định lượng Interleukin - 12p70 human.....	501
59. Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các dị nguyên hô hấp	510
60. Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các dị nguyên thức ăn	516
61. Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các dị nguyên sữa	522
62. Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các loại thuốc (đối với 6 loại thuốc).....	528
63. Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với Vắc xin, huyết thanh.....	534
64. Test nội bì nhanh đặc hiệu với thuốc.....	540
65. Test nội bì nhanh đặc hiệu với Vắc xin, huyết thanh	546
66. Test nội bì chậm đặc hiệu với thuốc.....	552
67. Test nội bì chậm đặc hiệu với Vắc xin, huyết thanh	558
68. Test áp bì (Patch test) đặc hiệu với thuốc (đối với 6 loại thuốc).....	564
69. Test áp bì (Patch test) đặc hiệu với mỹ phẩm	570
70. Phản ứng phân hủy Mastocyte (đối với 6 loại dị nguyên)	576
71. Phản ứng tiêu bạch cầu đặc hiệu	581

72. Liệu pháp miễn dịch đặc hiệu đường dưới lưỡi với dị nguyên (giai đoạn ban đầu - thời gian điều trị trung bình 15 ngày)	586
73. Liệu pháp miễn dịch đặc hiệu đường dưới lưỡi với dị nguyên (giai đoạn duy trì - thời gian điều trị trung bình 3 tháng).....	591
74. Giảm mẫn cảm nhanh với thuốc 72 giờ	597
75. Giảm mẫn cảm với thuốc đường tĩnh mạch	602
76. Giảm mẫn cảm với thuốc đường uống	609
77. Giảm mẫn cảm với sữa.....	615
78. Giảm mẫn cảm với thức ăn.....	620
79. Test kích thích với thuốc đường tĩnh mạch	626
80. Test kích thích với thuốc đường uống.....	632
81. Test kích thích với sữa.....	638
82. Test kích thích với thức ăn	643
83. Test huyết thanh tự thân	648
84. Test hồi phục phế quản.....	654
85. Test kích thích phế quản không đặc hiệu với Methacholine	659
86. Đo FeNO.....	665
87. Đo phế dung kế - Spirometry (FVC, SVC, TLC)	671
88. Đo dung tích sống gắng sức- FVC	678
89. Đo thông khí tự nguyện tối đa - MVV	683
90. Đo khuếch tán phổi - Diffusion Capacity.....	686
91. Đo các thể tích phổi - Lung Volumes.....	692
92. Đo biến đổi thể tích toàn thân - Body Plethysmography	698
93. Truyền Cyclophosphamide pulse therapy	706
94. Truyền IVIg	712
95. Truyền Pulse Therapy Corticoid	719
96. Truyền kháng thể đơn dòng.....	725

PHỤ LỤC
DANH MỤC KỸ THUẬT VỀ DỊ ỨNG - MIỄN DỊCH LÂM SÀNG

STT trong QTKT (cột 1)	STT kỹ thuật trong Chương (cột 2)	Tên kỹ thuật được quy định tại Phụ lục 2 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 3)	Mã liên kết (cột 4)	Tên kỹ thuật đã được quy định tại Phụ lục 1 Thông tư số 23/2023/TT-BYT (cột 5)
1	1	Định lượng kháng thể kháng chuỗi kép DNA	2.520; 22.325	Định lượng kháng thể kháng nhân và kháng thể kháng chuỗi kép (ANA & DsDNA)
2	2	Định lượng kháng thể kháng nhân ANA	2.520; 22.326	Định lượng kháng thể kháng nhân và kháng thể kháng chuỗi kép (ANA & DsDNA)
3	3	Định lượng kháng thể kháng Phospholipid IgG/IgM	2.521; 22.375	Định lượng kháng thể kháng Phospholipid IgG/IgM
4	4	Định lượng kháng thể kháng Cardiolipin IgA/IgG/IgM bằng phương pháp ELISA/ miễn dịch hoá phát quang/điện hoá phát quang	2.522; 22.68; 22.69	Định lượng kháng thể kháng Cardiolipin IgA/IgG/IgM
5	5	Định lượng kháng thể kháng Beta2 - Glycoprotein IgG/IgM/DM1/IgA bằng phương pháp ELISA/hoá phát quang/điện hoá phát quang	2.523; 22.70; 22.71	Định lượng kháng thể kháng Beta2 - Glycoprotein IgG/IgM
6	6	Định lượng kháng thể kháng tương bào bạch cầu đa nhân trung tính (ANCA)	2.524	Định lượng kháng thể kháng tương bào bạch cầu đa nhân trung tính (ANCA)
7	7	Định lượng kháng thể kháng ty lạp thể (AMA-M2)	2.525	Định lượng kháng thể kháng ty lạp thể (AMA-M2)

8	8	Định lượng kháng thể kháng tương bào gan type1 (LC1)	2.526	Định lượng kháng thể kháng tương bào gan type1 (LC1)
9	9	Định lượng kháng thể kháng tiêu vi thể gan thận type 1 (LKM1)	2.527	Định lượng kháng thể kháng tiêu vi thể gan thận type 1 (LKM1)
10	10	Định lượng kháng thể kháng thụ thể GLYCOPROTEIN trên màng tế bào gan người châu Á (ASGPR)	2.528	Định lượng kháng thể kháng thụ thể GLYCOPROTEIN trên màng tế bào gan người châu Á (ASGPR)
11	11	Định lượng ERYTHROPOIETIN (EPO)	2.529	Định lượng ERYTHROPOIETIN (EPO)
12	12	Định lượng kháng thể kháng Scl - 70	2.530; 22.318	Định lượng kháng thể kháng Scl - 70
13	13	Định lượng kháng thể kháng Jo - 1	2.531	Định lượng kháng thể kháng Jo - 1
14	14	Định lượng kháng thể kháng Histone	2.532; 22.317	Định lượng kháng thể kháng Histone
15	15	Định lượng kháng thể kháng Sm	2.533; 22.320	Định lượng kháng thể kháng Sm
16	16	Định lượng kháng thể kháng SS - A(Ro)	2.534; 22.321	Định lượng kháng thể kháng SS - A(Ro)
17	17	Định lượng kháng thể kháng SS - B(La)	2.535; 22.322	Định lượng kháng thể kháng SS - B(La)
18	18	Định lượng kháng thể kháng SSA - p200	2.536	Định lượng kháng thể kháng SSA - p200
19	19	Định lượng kháng thể kháng Prothrombin	2.537	Định lượng kháng thể kháng Prothrombin
20	20	Định lượng kháng thể kháng RNP - 70	2.538; 22.324	Định lượng kháng thể kháng RNP - 70
21	21	Định lượng MPO (pANCA)	2.539	Định lượng MPO (pANCA)
22	22	Định lượng PR3 (cANCA)	2.540	Định lượng PR3 (cANCA)
23	23	Định lượng kháng thể kháng Insulin	2.541	Định lượng kháng thể kháng Insulin
24	24	Định lượng kháng thể kháng CCP	2.542	Định lượng kháng thể kháng CCP

25	25	Định lượng kháng thể kháng Centromere	2.543	Định lượng kháng thể kháng Centromere
26	26	Định lượng kháng thể C ₁ INH	2.544	Định lượng kháng thể C ₁ INH
27	27	Định lượng kháng thể GBM ab	2.545	Định lượng kháng thể GBM ab
28	28	Định lượng Tryptase	2.546	Định lượng Tryptase
29	29	Định lượng kháng thể kháng tinh trùng	2.547	Định lượng kháng thể kháng tinh trùng
30	30	Định lượng kháng thể kháng tiểu cầu	2.548	Định lượng kháng thể kháng tiểu cầu
31	31	Định lượng kháng thể kháng ENA	2.549	Định lượng kháng thể kháng ENA
32	32	Định lượng Histamine	2.550	Định lượng Histamine
33	33	Định lượng kháng thể kháng C1q	2.551	Định lượng kháng thể kháng C1q
34	34	Định lượng kháng thể kháng C3a	2.552	Định lượng kháng thể kháng C3a
35	35	Định lượng kháng thể kháng C3bi	2.553	Định lượng kháng thể kháng C3bi
36	36	Định lượng kháng thể kháng C3d	2.554	Định lượng kháng thể kháng C3d
37	37	Định lượng kháng thể kháng C4a	2.555	Định lượng kháng thể kháng C4a
38	54	Kháng thể kháng nhân (Anti-ANA) bằng kỹ thuật huỳnh quang	22.328	Phát hiện kháng thể kháng nhân bằng kỹ thuật huỳnh quang
39	55	Kháng thể kháng dsDNA (Anti-dsDNA) bằng kỹ thuật huỳnh quang. Kháng thể kháng nhân (Anti-ANA) bằng kỹ thuật huỳnh quang.	22.327 22.328	Phát hiện các tự kháng thể trong bệnh tự miễn bằng miễn dịch huỳnh quang
40	61	Xét nghiệm panel viêm đa cơ tự miễn (phát hiện các typ kháng thể tự miễn đặc trưng trong	22.372	Các tự kháng thể trong viêm cơ tự miễn bằng kỹ thuật sắc ký thanh giấy (18 loại)

		bệnh viêm đa cơ tự miễn bằng thanh sắc ký miễn dịch)		
41	64	Xét nghiệm panel Viêm gan tự miễn (phát hiện các Typ kháng thể tự miễn đặc trưng trong bệnh viêm gan tự miễn bằng thanh sắc ký miễn dịch)	22.371	Các tự kháng thể trong viêm gan tự miễn bằng kỹ thuật sắc ký thanh giấy (14 loại)
42	65	Định lượng kháng thể kháng C5a	2.556	Định lượng kháng thể kháng C5a
43	66	Định lượng kháng thể IgG1	2.569	Định lượng kháng thể IgG1
44	67	Định lượng kháng thể IgG2	2.570	Định lượng kháng thể IgG2
45	68	Định lượng kháng thể IgG3	2.571	Định lượng kháng thể IgG3
46	69	Định lượng kháng thể IgG4	2.572	Định lượng kháng thể IgG4
47	70	Định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên hô hấp (đối với 1 dị nguyên)	2.573	Định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên hô hấp (đối với 1 dị nguyên)
48	71	Định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên thức ăn (đối với 1 dị nguyên)	2.574	Định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên thức ăn (đối với 1 dị nguyên)
49	72	Định lượng IgE đặc hiệu chẩn đoán dị ứng thuốc (đối với 1 loại thuốc)	2.575	Định lượng IgE đặc hiệu chẩn đoán dị ứng thuốc (đối với 1 loại thuốc)
50	73	Định lượng ELISA chẩn đoán dị ứng thuốc (đối với 1 loại thuốc)	2.576	Định lượng ELISA chẩn đoán dị ứng thuốc (đối với 1 loại thuốc)
51	74	Định lượng Interleukin - 1 α human	2.577	Định lượng Interleukin - 1 α human
52	75	Định lượng Interleukin - 1 β human	2.578	Định lượng Interleukin - 1 β human
53	76	Định lượng Interleukin - 2 human	2.579	Định lượng Interleukin - 2 human
54	77	Định lượng Interleukin - 4 human	2.580	Định lượng Interleukin - 4 human
55	78	Định lượng Interleukin - 6 human	2.581	Định lượng Interleukin - 6 human

56	79	Định lượng Interleukin - 8 human	2.582	Định lượng Interleukin - 8 human
57	80	Định lượng Interleukin - 10 human	2.583	Định lượng Interleukin - 10 human
58	81	Định lượng Interleukin - 12p70 human	2.584	Định lượng Interleukin - 12p70 human
59	82	Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các dị nguyên hô hấp	2.585	Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các dị nguyên hô hấp
60	83	Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các dị nguyên thức ăn	2.586	Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các dị nguyên thức ăn
61	84	Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các dị nguyên sữa	2.587	Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các dị nguyên sữa
62	85	Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các loại thuốc (Đối với 6 loại thuốc)	2.588	Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với các loại thuốc (Đối với 6 loại thuốc)
63	86	Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với Vacxin, huyết thanh	2.589	Test lấy da (Prick test) đặc hiệu với Vacxin, huyết thanh
64	87	Test nội bì nhanh đặc hiệu với thuốc	2.590	Test nội bì nhanh đặc hiệu với thuốc
65	88	Test nội bì nhanh đặc hiệu với Vacxin, huyết thanh	2.591	Test nội bì nhanh đặc hiệu với Vacxin, huyết thanh
66	89	Test nội bì chậm đặc hiệu với thuốc	2.592	Test nội bì chậm đặc hiệu với thuốc
67	90	Test nội bì chậm đặc hiệu với Vacxin, huyết thanh	2.593	Test nội bì chậm đặc hiệu với Vacxin, huyết thanh
68	91	Test áp bì (Patch test) đặc hiệu với thuốc (đối với 6 loại thuốc)	2.594	Test áp bì (Patch test) đặc hiệu với thuốc (đối với 6 loại thuốc)
69	92	Test áp bì (Patch test) đặc hiệu với mỹ phẩm	2.595	Test áp bì (Patch test) đặc hiệu với mỹ phẩm
70	93	Phản ứng phân hủy Mastocyte (đối với 6 loại dị nguyên)	2.596	Phản ứng phân hủy Mastocyte (đối với 6 loại dị nguyên)

71	94	Phản ứng tiêu bạch cầu đặc hiệu	2.597	Phản ứng tiêu bạch cầu đặc hiệu
72	95	Liệu pháp miễn dịch đặc hiệu đường dưới lưỡi với dị nguyên (giai đoạn ban đầu - thời gian điều trị trung bình 15 ngày)	2.598	Liệu pháp miễn dịch đặc hiệu đường dưới lưỡi với dị nguyên (giai đoạn ban đầu - thời gian điều trị trung bình 15 ngày)
73	96	Liệu pháp miễn dịch đặc hiệu đường dưới lưỡi với dị nguyên (giai đoạn duy trì - thời gian điều trị trung bình 3 tháng)	2.599	Liệu pháp miễn dịch đặc hiệu đường dưới lưỡi với dị nguyên (giai đoạn duy trì - thời gian điều trị trung bình 3 tháng)
74	97	Giảm mẫn cảm nhanh với thuốc 72 giờ	2.600	Giảm mẫn cảm nhanh với thuốc 72 giờ
75	98	Giảm mẫn cảm với thuốc đường tĩnh mạch	2.601	Giảm mẫn cảm với thuốc đường tĩnh mạch
76	99	Giảm mẫn cảm với thuốc đường uống	2.602	Giảm mẫn cảm với thuốc đường uống
77	100	Giảm mẫn cảm với sữa	2.603	Giảm mẫn cảm với sữa
78	101	Giảm mẫn cảm với thức ăn	2.604	Giảm mẫn cảm với thức ăn
79	102	Test kích thích với thuốc đường tĩnh mạch	2.605	Test kích thích với thuốc đường tĩnh mạch
80	103	Test kích thích với thuốc đường uống	2.606	Test kích thích với thuốc đường uống
81	104	Test kích thích với sữa	2.607	Test kích thích với sữa
82	105	Test kích thích với thức ăn	2.608	Test kích thích với thức ăn
83	106	Test huyết thanh tự thân	2.609	Test huyết thanh tự thân
84	107	Test hồi phục phế quản.	2.610	Test hồi phục phế quản.
85	108	Test kích thích phế quản không đặc hiệu với Methacholine	2.611	Test kích thích phế quản không đặc hiệu với Methacholine
86	109	Đo FeNO	2.612	Đo FeNO
87	110	Đo phế dung kế - Spirometry (FVC, SVC, TLC)	2.613 2.615	Đo phế dung kế - Spirometry (FVC, SVC, TLC) Đo dung tích sống chậm - SVC

88	111	Đo dung tích sống gắng sức - FVC	2.614	Đo dung tích sống gắng sức - FVC
89	112	Đo thông khí tự nguyện tối đa - MVV	2.616	Đo thông khí tự nguyện tối đa - MVV
90	113	Đo khuếch tán phổi - Diffusion Capacity	2.618	Đo khuếch tán phổi - Diffusion Capacity
91	114	Đo các thể tích phổi - Lung Volumes	2.619	Đo các thể tích phổi - Lung Volumes
92	115	Đo biến đổi thể tích toàn thân - Body Plethysmography	2.620	Đo biến đổi thể tích toàn thân - Body Plethysmography
93	116	Truyền Cyclophosphamide pulse therapy	2.623	Truyền Cyclophosphamide pulse therapy
94	117	Truyền IVIg	2.624	Truyền IVIg
95	118	Truyền Pulse Therapy Corticoid	2.625	Truyền Pulse Therapy Corticoid
96	119	Truyền kháng thể đơn dòng	2.626	Truyền kháng thể đơn dòng

DANH MỤC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Chữ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
AChR Ab	Anti-acetylcholine receptor antibody	Kháng thể kháng thụ thể Acetylcholine
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome	Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải
ANA	Anti nuclear antibody	Kháng thể kháng nhân
ANCA	Anti Neutrophil Cytoplasmic Antibody	Kháng thể kháng bạch cầu đa nhân trung tính
ASA/NSAIDs		Aspirin và các thuốc chống viêm không Steroid
AMA - M2	Anti-mitochondrial M2 Antibody	Kháng thể kháng kháng nguyên M2 ở ty Lạp thể
ASGPR	Asialoglycoprotein receptor	Kháng thể kháng thụ thể Glycoprotein ở người Châu Á
AZT	Azidothymidine	
C	Complement	Bổ thể
CCP	Cyclic Citrunilate Peptide	Peptid Citrullin vòng
C ₁ INH	C ₁ Inhibitor	Chất ức chế C ₁ Esterase
CNHH	Chức năng hô hấp	
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease	Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính
DRESS	Drug rash with eosinophilia and systemic symptoms	Ban đỏ tăng bạch cầu ái toan và triệu chứng toàn thân do thuốc
DsDNA	Double strains desoxyribonucleic acid	Chuỗi kép DNA
ELISA	Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay	Phương pháp hấp phụ miễn dịch gắn men
ENA	Extractable Nuclear Antigen	Kháng nguyên chiết xuất từ nhân
EPO	Erythroprotein	
ESCD	European Society of Contact Dermatitis	Hội viêm da tiếp xúc Châu Âu
FeNO	Fraction of exhaled nitric oxide	
FEV1	Forced Expiratory volume during 1 st second	Thể tích thở ra gắng sức trong giây đầu tiên
FEV1/FVC	Gaensler ratio:	Chỉ số Gaensler
FRC	Functional residual capacity	Dung tích cặn chức năng
FVC	Forced vital capacity	Dung tích sống gắng sức
SJS/TEN	Hội chứng Stevens - Johnson	Hoại tử thượng bì nhiễm độc

GMC		Giải miễn cảm
GBM	Glomerular basement membrane	Kháng thể kháng màng đáy cầu thận
HCSP		Hóa chất sinh phẩm
HPQ		Hen phế quản
IVIg	Intravenous Immunoglobulin	Globulin miễn dịch truyền tĩnh mạch
KN	Kháng nguyên	
KT	Kháng thể	
LP	Liver and Pancreas antigen	Kháng nguyên gan tụy
MPO	Myeloperoxidase	
MVV	Maximal voluntary ventilation	Thông khí tự ý tối đa
NMDA	N-Methyl-D-aspartic acid	
QC	Quality Control	
FITC	Fluorescein isothiocyanate	Chất phát huỳnh quang Isothiocyanate
PEF	Peak expiratory flow	Lưu lượng đỉnh thở ra
PR3	Proteinase 3	
MuSK	Muscle-specific kinase	Kinase đặc hiệu cơ
RNP-70	Ribonucleoprotein-70	
RNA	Ribonucleic acid	Axit Ribonucleic
RV	Residual volume	Thể tích khí cặn
Scl-70	Topoisomerase antigen 70 kD	Kháng nguyên Topoisomerase 70 kD
Sm	Smith	
SLE	Systemic lupus erythematosus	Lupus ban đỏ hệ thống
SLA	Soluble liver antigen	Kháng nguyên gan hòa tan
SSA	Sjögren's-syndrome-related antigen A	Kháng nguyên liên quan hội chứng Sjögren type A
SSB	Sjögren's-syndrome-related antigen B	Kháng nguyên liên quan hội chứng Sjögren type B
TLC	Total lung capacity	Dung tích phổi toàn phần
VC	Vital capacity	Dung tích sống

1. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG CHUỖI KÉP DNA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể DsDNA trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định các bệnh Lupus ban đỏ hệ thống, Xơ cứng bì, Viêm da cơ - Viêm đa cơ, bệnh mô liên kết hỗn hợp, hội chứng Sjogren, hội chứng CREST, Viêm khớp, Viêm mạch hệ thống.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.
- Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng chuỗi kép DNA.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;

- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp.
- Dung dịch cơ chất.
- Dung dịch dừng phản ứng.

- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.

- Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả: Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm DsDNA của nhà sản xuất để nhận định kết quả
- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

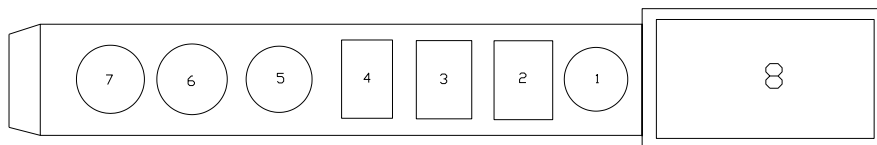
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả: Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng chuỗi kép DNA của nhà sản xuất để nhận định kết quả
 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:
- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.
2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol*. 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med*. 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol*. 2023;2612:1-17.

2. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG NHÂN ANA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể kháng nhân ANA trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định các bệnh Lupus ban đỏ hệ thống, Xơ cứng bì, Viêm da cơ - Viêm đa cơ, bệnh mô liên kết hỗn hợp, hội chứng Sjogren, hội chứng CREST, Viêm khớp, Viêm mạch hệ thống.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng lại ANA nhân tế bào.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định

- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ
- Chứng dương tính và chứng âm tính
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch rửa
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5'
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu
- Đo mật độ quang học của mẫu

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.

- Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng nhân ANA của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

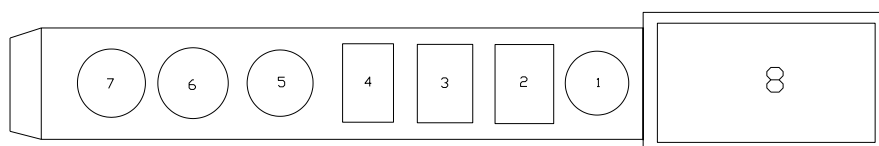
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả
- Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng nhân ANA của nhà sản xuất để nhận định kết quả:
- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:
- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định

Giải pháp: thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm

Giải pháp: quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.
2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol*. 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med*. 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol*. 2023;2612:1-17.

3. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG PHOSPHOLIPID IgG/IgM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể Phospholipid IgG/IgM trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định hội chứng Antiphospholipid, bệnh huyết khối tĩnh mạch, động mạch, sảy thai tái phát, thai lưu

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG/IgM trong mẫu bệnh phẩm kháng lại Phospholipid màng tế bào

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: Thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định

- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ
- Chứng dương tính và chứng âm tính
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch rửa
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5'
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu
- Đo mật độ quang học của mẫu

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục

- Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng Phospholipid IgG/IgM của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

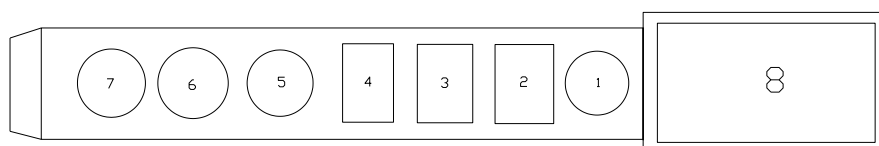
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Dung dịch rửa
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
- + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
- + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm
- + Xem xét kết quả QC:
- Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục
- Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng Phospholipid IgG/IgM của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:
- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.
2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol*. 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med*. 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol*. 2023;2612:1-17.

4. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG CARDIOLIPIN IgG/IgM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể kháng Cardiolipin IgG/IgM trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định hội chứng Antiphospholipid, giảm lượng tiểu cầu, bệnh huyết khối tĩnh mạch, động mạch, bệnh động kinh, sảy thai tái phát, thai lưu.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG/IgM trong mẫu bệnh phẩm kháng Cardiolipin màng trong ty thể.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 - 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định

- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ
- Chứng dương tính và chứng âm tính
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch rửa
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5'
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu
- Đo mật độ quang học của mẫu

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục

- Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng Cardiolipin IgG/IgM của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

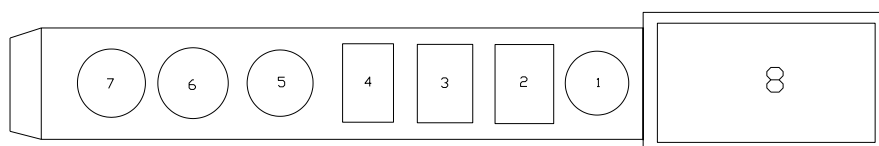
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Dung dịch rửa
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng Cardiolipin IgG/IgM của nhà sản xuất để nhận định kết quả:
- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:
- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định

Giải pháp: thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm

Giải pháp: quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47
2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol*. 2009 Jan 2;4:1
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(12):715-726
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med*. 2019 Dec;39(4):513-524
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol*. 2023;2612:1-17

5. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG BETA2 - GLYCOPROTEIN IgG/IgM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể kháng Beta2-Glycoprotein IgG/IgM trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định hội chứng Antiphospholipid, chứng múa giật, thiếu máu não cục bộ, bệnh huyết khối tĩnh mạch, động mạch

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG/IgM trong mẫu bệnh phẩm kháng lại Beta2 - Glycoprotein

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cắm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu cân vàng
- Đầu cân xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định

- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ
- Chứng dương tính và chứng âm tính
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch rửa
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5'
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu
- Đo mật độ quang học của mẫu

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục

- Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng Beta2-Glycoprotein IgG/IgM của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

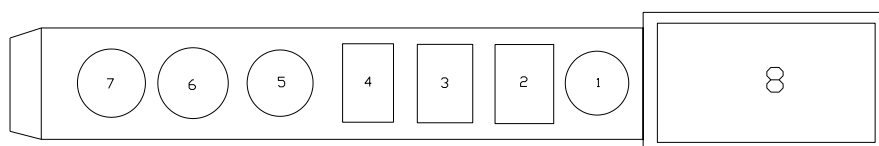
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Dung dịch rửa
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng Beta2 Glycoprotein IgG/IgM của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:
- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.
2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol*. 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med*. 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol*. 2023;2612:1-17.

6. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG TƯƠNG BẢO BẠCH CẦU ĐA NHÂN TRUNG TÍNH (ANCA)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể ANCA trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định các bệnh viêm mạch, u hạt Wegener.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng lại các thành phần của bào tương tế bào bạch cầu đa nhân trung tính và mono, gồm p-ANCA và c-ANCA.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: Thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;

- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.

- Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng tương bào bạch cầu đa nhân trung tính ANCA của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

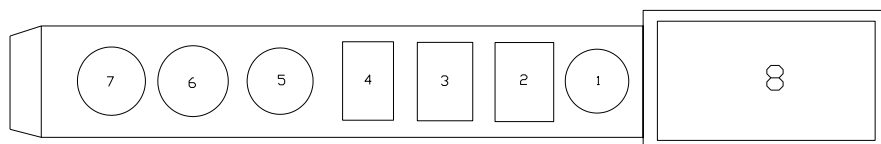
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng tương bào bạch cầu đa nhân trung tính (ANCA) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:
- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.
2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol*. 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med*. 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol*. 2023;2612:1-17.

7. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG TY LẠP THỂ (AMA-M2)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể AMA-M2 trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xơ gan mật nguyên phát.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng lại AMA-M2 ty lập thể.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm

- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu

- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: Thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng ty lạp thể (AMA- M2) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

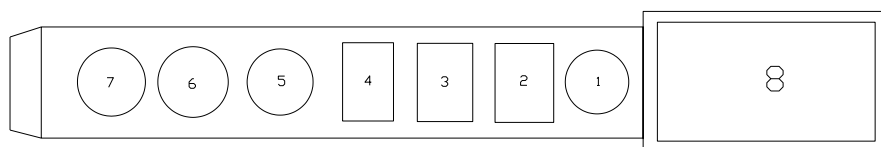
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng ty lạp thể (AMA- M2) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan máu
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần pha loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

8. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG TƯƠNG BẢO GAN TYPE1 (LC1)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể LC1 trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán viêm gan tự miễn (AIH).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng lại LC1 tương bào gan.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm

- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu

- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cẩn tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.2. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng tương bào gan type1 (LC1) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

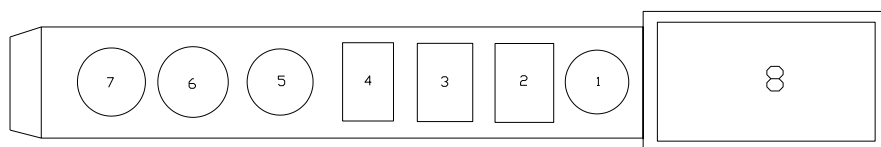
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng tương bào gan type 1 (LC1) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết thanh vàng

+ Huyết thanh tan huyết

+ Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

+ Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

+ Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.

- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

9. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG TIỂU VI THỂ GAN THẬN TYPE1 (LKM1)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể LKM1 trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán viêm gan tự miễn (AIH).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng LKM1 tiểu vi thể gan-thận.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: Thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng tiểu vi thể gan thận (LKM1) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

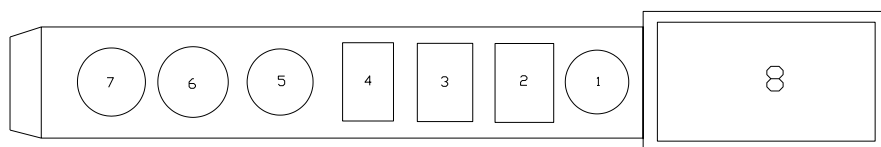
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2 -8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng tiêu vi thể gan thận (LKM1) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:
- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

10. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG THỤ THỂ GLYCOPROTEIN TRÊN MÀNG TẾ BÀO GAN NGƯỜI CHÂU Á (ASGPR)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể ASGPR trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán viêm gan tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng thụ thể Glycoprotein (ASGPR) trên màng tế bào gan.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: Thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể ASGPR của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

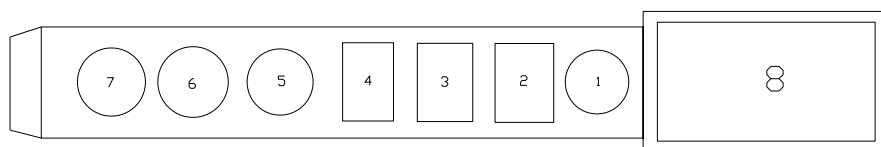
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng thụ thể GLYCOPROTEIN trên màng tế bào gan người châu Á (ASGPR) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết thanh vàng

+ Huyết thanh tan huyết

+ Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

+ Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

+ Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.

- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

11. ĐỊNH LƯỢNG ERYTHROPOIETIN (EPO)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ Erythropoietin (EPO) trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ xác định nguyên nhân gây thiếu máu (không do thiếu sắt), cảnh báo sớm quá trình thải ghép thận, theo dõi AIDS điều trị bằng AZT, đánh giá mức độ suy thận.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm

- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất

- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5'.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng ERYTHROPOIETIN (EPO) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

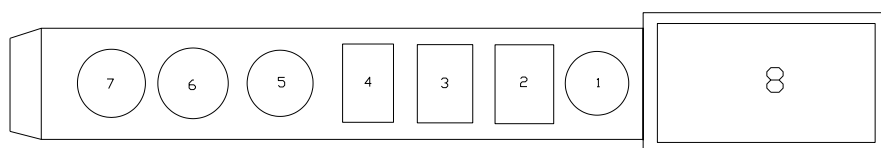
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng ERYTHROPOIETIN (EPO) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

12. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG Scl-70

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể Scl-70 trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định bệnh xơ cứng bì.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng Scl-70. Scl-70 - Enzym Topoisomerase protein có chức năng cắt và nối các chuỗi DNA trong quá trình sinh tổng hợp DNA. ARN có ái lực cao với nguyên bào sợi ở trung bì.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;

- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng

- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.

- Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể Scl-70 của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

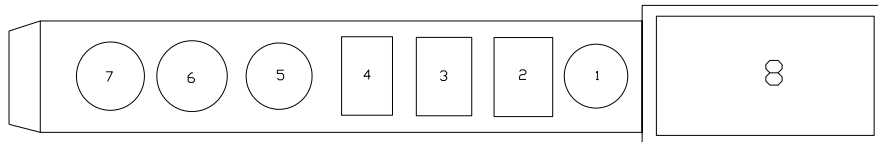
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng Scl-70 của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:
- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.
2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol*. 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med*. 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol*. 2023;2612:1-17.

13. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG Jo - 1

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể Jo - 1 trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định bệnh viêm da cơ.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng Jo-1. Kháng thể Jo-1 kháng lại enzym tổng hợp Histidyl -tRNA.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể Jo-1 của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

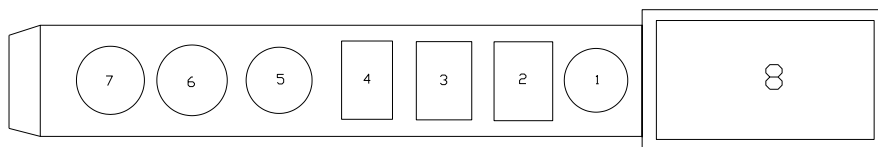
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng Jo-1 của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

14. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG HISTONE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể Histone trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định bệnh lupus do thuốc.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

- Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng Histone - 1 loại protein hình thành cấu trúc của DNA.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet;
- Hộp đựng đầu côn;
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng Histone của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

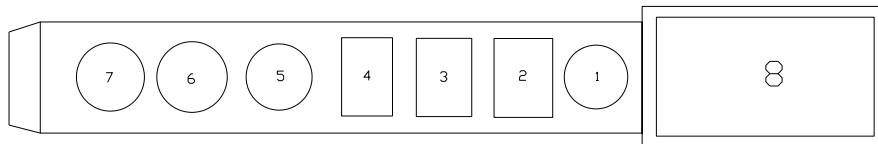
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng Histone của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

15. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG Sm

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể Sm trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định bệnh Lupus ban đỏ hệ thống (SLE).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng Sm- Ribonucleoprotein trong nhân tế bào.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể Sm của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

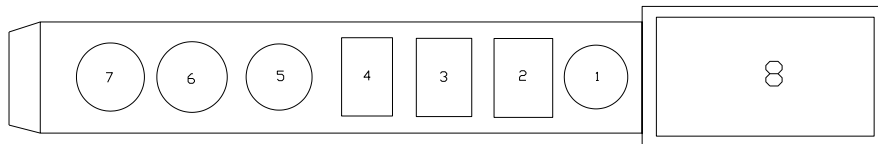
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng Sm của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

16. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG SS-A (Ro)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể SS-A (Ro) trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định hội chứng Sjogren, lupus ban đỏ hệ thống, viêm cơ, lupus sơ sinh - block nhĩ thất.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng SS-A (Ro) nhân tế bào.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể SS-A (Ro) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

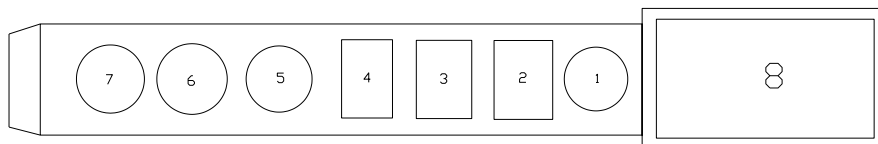
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng SS-A (Ro) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

17. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG SS-B (La)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể SS-B (La) trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định hội chứng Sjogren, Lupus ban đỏ hệ thống, viêm cơ, Lupus sơ sinh - Block nhĩ thất.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng SS-B (La) nhân tế bào.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể SS-B (La) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

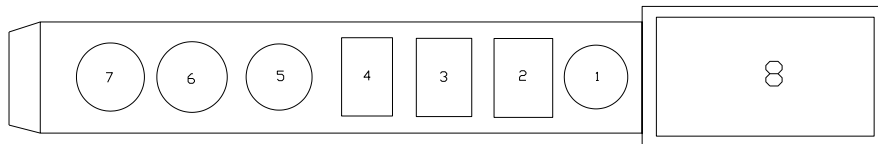
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng SS-B (La) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

18. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG SSA - p200

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể SSA-p200 trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định bệnh tim bẩm sinh liên quan đến bệnh tự miễn (SLE).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

- Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng SSA-p200 nhân tế bào.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: Họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể SSA - p200 của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Các bước thực hiện

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

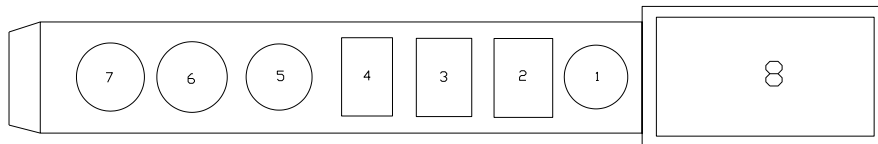
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng SSA- p200 của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhò mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhò mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhò mẫu trước khi nhò mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

19. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG PROTHROMBIN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể Prothrombin trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán Hội chứng Antiphospholipid, suy giảm tiểu cầu tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm

- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất

- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng Prothrombin của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

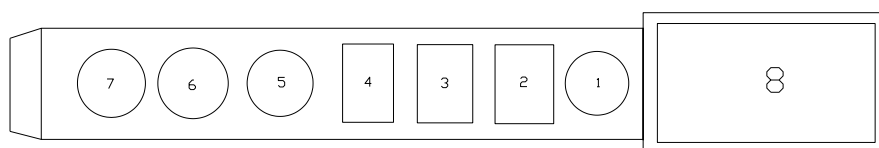
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng Kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng Trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2 -8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng Prothrombin của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

20. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG RNP - 70

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể RNP-70 trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định bệnh mô liên kết hỗn hợp, xơ cứng bì, viêm da cơ.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng RNP - 70 trong RNA nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet;
- Hộp đựng đầu côn;
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2 -8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2 -8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể RNP - 70 của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

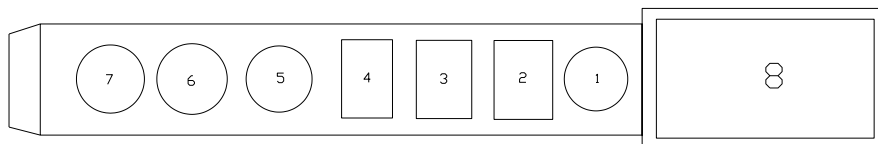
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2 -8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng RNP -70 của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

21. ĐỊNH LƯỢNG MPO (PANCA)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể MPO (pANCA) trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định bệnh viêm mạch.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng MPO (pANCA) trong bào tương.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể MPO (pANCA) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

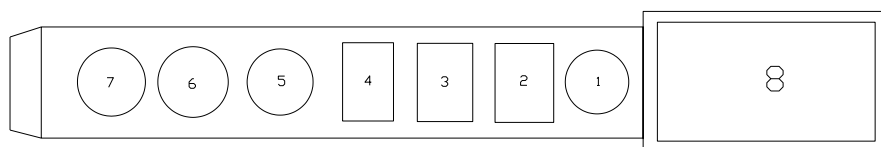
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng MPO (pANCA) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan máu
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần pha loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol*. 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med*. 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol*. 2023;2612:1-17.

22. ĐỊNH LƯỢNG PR3 (cANCA)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể PR3 (cANCA) trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định bệnh viêm mạch.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kháng nguyên tinh khiết đã được gắn vào giếng trong thanh test. Những loại kháng thể kháng những kháng nguyên, nếu có mặt trong huyết thanh bệnh nhân kết hợp với kháng nguyên trong các giếng tạo phức hợp kháng nguyên kháng thể đặc hiệu. Phức hợp này được đo quang, nồng độ kháng thể sẽ tỷ lệ thuận với độ hấp thụ quang.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng PR3 (cANCA) trong bào tương.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch rửa
- Dung dịch rửa ngày
- Dung dịch rửa tuần
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- HCSP chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C

- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu.
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2 -8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể PR3 (CANCA) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

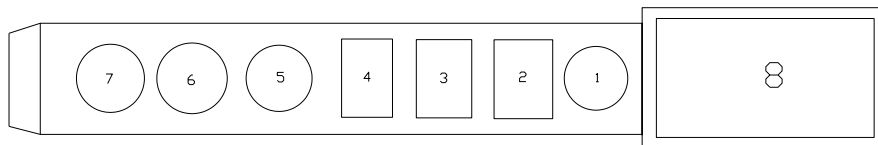
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng PR3 (CANCA) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

23. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG INSULIN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể Insulin trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán bệnh tiểu đường liên quan đến tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm

- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu

- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể RNP - 70 của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

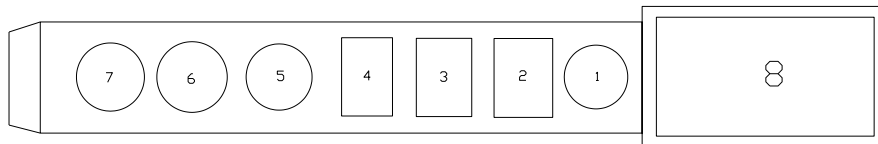
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2 -8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng Insulin của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

24. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG CCP

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể CCP trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định bệnh viêm đa khớp dạng thấp.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng chất trung gian CP (Citrullinated Peptides).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể CCP của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

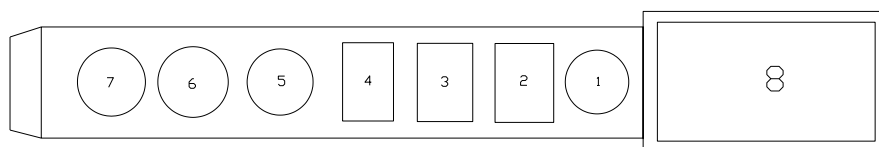
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng CCP của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết thanh vàng

+ Huyết thanh tan huyết

+ Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

+ Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

+ Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.

- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

25. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG CENTROMERE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể Centromere trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định bệnh Xơ cứng bì.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng tâm động.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể Centromere của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

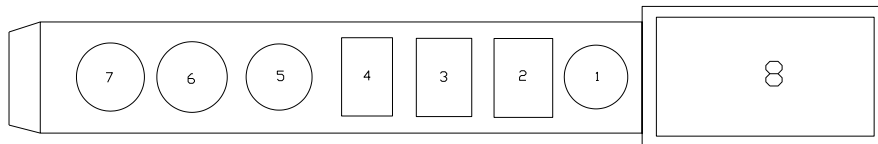
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng Centromere của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

26. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ C1INH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể C1INH trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định bệnh phù mạch di truyền.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm

- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất

- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể Centromere của nhà sản xuất để nhận định kết quả:
- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

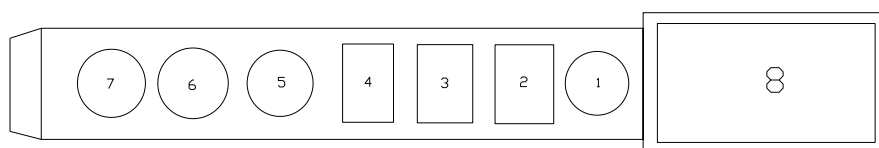
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể C1INH của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết thanh vàng

+ Huyết thanh tan huyết

+ Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

+ Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

+ Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.

- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

27. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ GBM ab

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể GBM ab trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xác định hội chứng Goodpasture.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng màng đáy cầu thận (GBM ab).

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể GBM ab của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

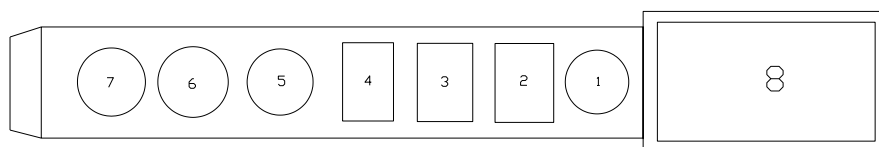
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể GBM ab của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

28. ĐỊNH LƯỢNG TRYPTASE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ enzym Tryptase trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán phản vệ.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô

- Tủ âm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5'.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Tryptase của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

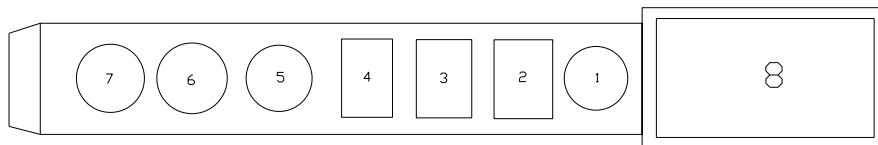
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Tryptase của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

29. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG TINH TRÙNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể kháng tinh trùng trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán vô sinh.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng tinh trùng.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm

- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu

- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng tinh trùng của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

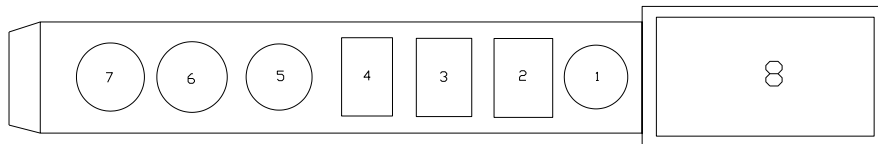
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng tinh trùng của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

30. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG TIỂU CẦU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể kháng tiểu cầu trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán xuất huyết giảm tiểu cầu tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet;
- Hộp đựng đầu côn;
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm

- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất

- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5'.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng tiêu cầu của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

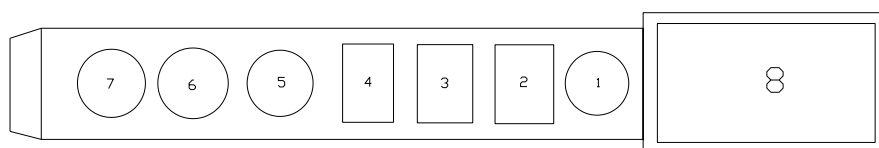
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng tinh trùng của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

31. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG ENA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể ENA trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán phát hiện các bệnh tự miễn: Lupus ban đỏ hệ thống, bệnh mô liên kết hỗn hợp, hội chứng Sjogren, Xơ cứng bì, Viêm da cơ.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm

- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu

- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2 -8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2 -8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng ENA của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

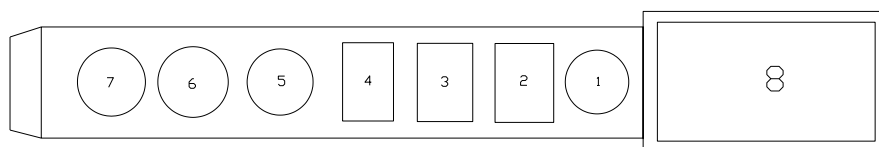
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng ENA của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

32. ĐỊNH LƯỢNG HISTAMINE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ Histamine trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán bệnh dị ứng.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô

- Tủ âm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp.
- Dung dịch cơ chất.
- Dung dịch dừng phản ứng.
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân.
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Histamine của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

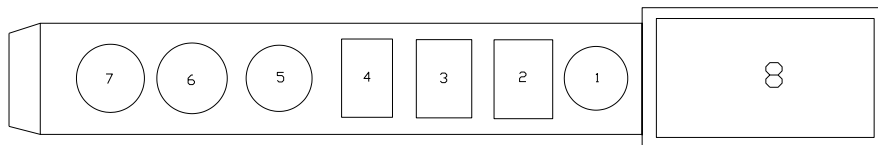
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control.
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm.
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test.
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test.
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm.
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân.
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Histamine của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

33. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG C1q

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể C1q trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán phù mạch di truyền, chẩn đoán mức độ tổn thương thận lupus.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

- Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

- Kỹ thuật phát hiện sự có mặt của kháng thể lớp IgG trong mẫu bệnh phẩm kháng C1q.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ
- Chứng dương tính và chứng âm tính
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch rửa
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5'
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu
- Đo mật độ quang học của mẫu

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng C1q của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

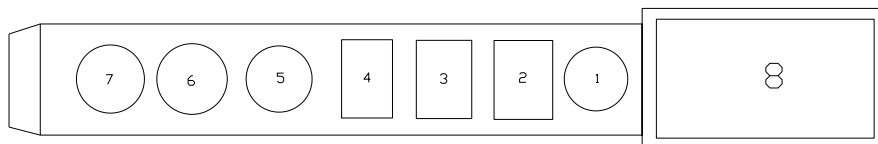
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng C1q của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

34. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG C3a

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể C3a trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán và theo dõi điều trị các bệnh tự miễn cấp hoặc mạn tính như Lupus ban đỏ hệ thống, Viêm khớp dạng thấp,... Theo dõi các bệnh và tình trạng liên quan đến phức hợp miễn dịch như viêm cầu thận, bệnh huyết thanh, viêm mạch, phù mạch di truyền,...

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet;
- Hộp đựng đầu côn;
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng C3a của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

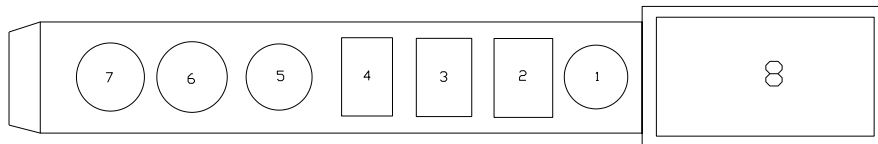
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng C3a của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

35. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG C3bi

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể C3bi trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán và theo dõi điều trị các bệnh tự miễn cấp hoặc mạn tính như: Lupus ban đỏ hệ thống, Viêm khớp dạng thấp,... Theo dõi các bệnh và tình trạng liên quan đến phức hợp miễn dịch như: viêm cầu thận, bệnh huyết thanh, viêm mạch, phù mạch di truyền,...

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng C3bi của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

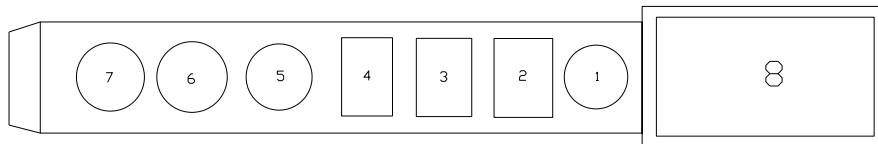
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng C3bi của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

36. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG C3d

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể C3d trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán và theo dõi điều trị các bệnh tự miễn cấp hoặc mạn tính như: lupus ban đỏ hệ thống, viêm khớp dạng thấp,... Theo dõi các bệnh và tình trạng liên quan đến phức hợp miễn dịch như: viêm cầu thận, bệnh huyết thanh, viêm mạch, phù mạch di truyền,...

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.4. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2- 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng C3d của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

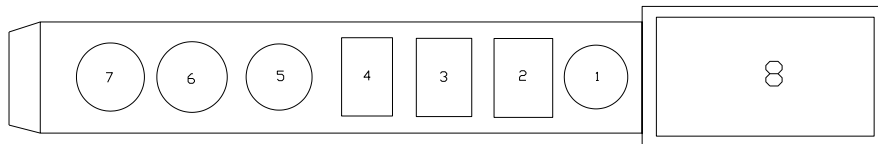
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2 -8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng C3d của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

37. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG C4a

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể C4a trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán và theo dõi điều trị các bệnh tự miễn cấp hoặc mạn tính như: Lupus ban đỏ hệ thống, Viêm khớp dạng thấp,.. Theo dõi các bệnh và tình trạng liên quan đến phức hợp miễn dịch như: viêm cầu thận, bệnh huyết thanh, viêm mạch, phù mạch di truyền,...

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng ngâm dụng cụ bẩn,...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng C4a của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

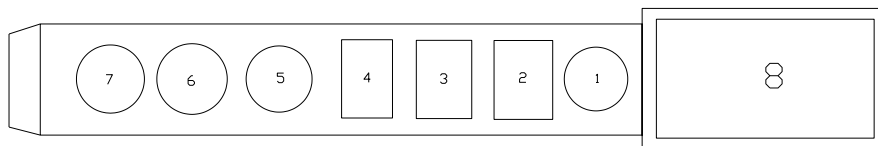
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng C4a của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

38. PHÁT HIỆN KHÁNG THỂ KHÁNG NHÂN BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH HUỖNH QUANG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện kháng thể kháng nhân của người bằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang hỗ trợ chẩn đoán các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Sử dụng kỹ thuật huỳnh quang gián tiếp (IIFT) phát hiện phức hợp kháng nguyên - kháng thể dưới kính hiển vi huỳnh quang. Trong đó, mẫu bệnh phẩm đã pha loãng được ủ với chất nền đặc hiệu biểu hiện các kháng nguyên đích. Nếu phản ứng dương tính xảy ra, các kháng thể đặc hiệu IgA, IgG và IgM trong mẫu bệnh phẩm kháng các kháng nguyên đích cần phát hiện sẽ gắn vào các kháng nguyên của chất nền. Để phát hiện sự xuất hiện của phức hợp kháng nguyên - kháng thể, quá trình ủ lần thứ hai được thực hiện với kháng thể đặc hiệu Anti-IgG (hoặc IgA/ IgM) được đánh dấu FITC và có thể được phát hiện dưới kính hiển vi huỳnh quang.

Phát hiện kháng thể nhóm IgG đặc hiệu của người kháng lại kháng nguyên tại nhân tế bào trong mẫu bệnh phẩm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet;
- Hộp đựng đầu côn;
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Bình thủy tinh 1 lít pha dung dịch rửa
- Bình đựng ngâm lam
- Cốc đong
- Khay hóa chất
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Kít hóa chất (đệm pha loãng mẫu, hóa chất pha dung dịch rửa)

- Chất kết gắn để phủ kính dày
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Slide
- Lame kính
- Chất gắn kết để dày kính
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

2.3.1. Máy bán tự động

- Kính hiển vi huỳnh quang kèm camera
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Tủ hồ sơ
- Máy lưu điện
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.3.2. Máy tự động

- Hệ thống máy miễn dịch huỳnh quang tự động
- Kính hiển vi huỳnh quang tích hợp phần mềm đọc kết quả
- Máy chuẩn bị slide tự động
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Tủ hồ sơ
- Máy lưu điện
- Thùng đựng rác tái chế

- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- + Loại bệnh phẩm: máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông EDTA, Heparin.
- + Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống máu: thể tích 3-5ml
- + Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, Heparin hoặc Citrat. Dịch não tủy (CSF) đối với một số các xét nghiệm phát hiện tự kháng thể trong bệnh viêm não tự miễn
- Mẫu máu: Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, máu không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: Trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác
- Các slide đã được phủ mô/ tế bào có biểu hiện kháng nguyên đích và được bảo bản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Các loại chứng bao gồm chứng âm, chứng dương
- Kháng thể kháng IgG người được gắn FITC
- Kít hóa chất (đệm pha loãng mẫu, hóa chất pha dung dịch rửa)
- Chất kết gán để phủ kính dày
- Chuẩn bị dung dịch rửa: dung dịch rửa sau khi được chuẩn bị cần được bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 1 tuần. Lưu ý không sử dụng dung dịch rửa đã bị đục hoặc xuất hiện nhiễm bẩn.
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của bộ xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Bước 1: Ủ 30 µl mẫu đã pha loãng với các slide có gắn chất nền tương ứng. Đảm bảo rằng mỗi mẫu đều liên kết với miền phản ứng có chứa chất nền đặc hiệu của nó và những mẫu riêng lẻ không lẫn vào nhau. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng (+18°C đến +25°C).
- Bước 2: Xả rửa nhanh các slide với đệm rửa. Sử dụng bình ngâm lam dạng đứng để ngâm ngập các slide với đệm rửa ít nhất 5 phút
- Bước 3: Ủ lần 2 các slide phản ứng với 25 µl kháng thể Anti-IgG đặc hiệu gắn nhãn huỳnh quang: sau khi lấy các slide ra khỏi bình ngâm lam, lau khô phần lưng và cạnh của slide bằng khăn giấy, đập mạnh các cạnh của slide vào khăn giấy với mục đích loại bỏ phần lớn các dung dịch đệm của quá trình ngâm rửa. Ngay lập tức

thực hiện quá trình ủ với kháng thể anti-igg đặc hiệu gắn nhãn huỳnh quang trong vòng 30 phút ở nhiệt độ phòng ($+18^{\circ}\text{C}$ đến $+25^{\circ}\text{C}$). Kiểm tra tương tác chính xác giữa các vùng phản ứng và hóa chất.

- Lưu ý: Quá trình thực hiện phải nhanh chóng tránh để bề mặt gắn chất nền trên slide bị khô - thực hiện trong vòng 5s. Không chạm vào khu vực phản ứng chưa các chất nền gắn. Kháng thể Anti-IgG người gắn nhãn huỳnh quang nên được trộn đều trước khi dùng. Quá trình ủ cần tránh ánh sáng trực tiếp.
- Bước 4: Bỏ sung đầy dung dịch rửa vào bình ngâm lam. Xối rửa slide bằng đệm rửa sau đó tiếp tục ngâm slide vào đệm rửa trong bình ngâm lam ít nhất 5 phút.
- Bước 5: Chuẩn bị đọc mẫu: nhỏ khoảng $10\mu\text{l}$ dung dịch kết dính lên kính phủ, úp ngược các slide lên kính phủ để chuẩn bị đọc kết quả.
- Bước 6: Đọc bằng kính hiển vi huỳnh quang.
- Đọc các mẫu thông thường: vật kính 20x (đối với mô, tế bào infected hoặc transfected), 40x (cơ chất tế bào)
- Bộ lọc kích thích: 450-490 nm, bộ tách màu: 510 nm, bộ lọc chặn: 515 nm.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả chạy chứng:
 - + Chạy chứng dương, chứng âm trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu chứng tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
- Xem xét kết quả chứng:
 - + Nếu kết quả chứng không đạt:
 - Sử dụng mẫu chứng khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - + Nếu kết quả chứng đạt: chất chứng dương cho tín hiệu huỳnh quang sáng rõ ràng, đặc hiệu trong khi chứng âm phải cho tín hiệu huỳnh quang âm tính, tiến hành đọc kết quả xét nghiệm.
- Đọc kết quả và nhận định kết quả:
 - + Kết quả được đánh giá bằng kính hiển vi huỳnh quang đã định tích hợp với phần mềm đọc kết quả tự động với:
 - + Phản ứng dương tính (hình ảnh cho tín hiệu huỳnh quang): Tự kháng thể phản ứng với kháng nguyên đích trên bề mặt của chất nền tạo tín hiệu huỳnh quang đặc hiệu.
 - + Phản ứng âm tính: Kết quả không cho tín hiệu huỳnh quang hoặc các phản ứng bất màu huỳnh quang không đặc hiệu

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, Heparin hoặc Citrat. Dịch não tủy (CSF) đối với một số các xét nghiệm phát hiện tự kháng thể trong bệnh viêm não tự miễn
- Mẫu máu: Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, máu không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác
- Các slide đã được phủ mô/ tế bào có biểu hiện kháng nguyên đích và được bảo bản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Các loại chứng bao gồm chứng âm, chứng dương
- Kháng thể kháng IgG người được gắn FITC
- Kít hóa chất (đệm pha loãng mẫu, hóa chất pha dung dịch rửa)
- Chất kết gắn để phủ kính dày
- Chuẩn bị dung dịch rửa: dung dịch rửa sau khi được chuẩn bị cần được bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 1 tuần. Lưu ý không sử dụng dung dịch rửa đã bị đục hoặc xuất hiện nhiễm bẩn.
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của bộ xét nghiệm.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

Thao tác trên máy xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang

- Bước 1: Bật máy, kiểm tra bình thải trống và bình chứa dung dịch rửa hệ thống phải được bổ sung đầy trước khi tiến hành chạy máy. Đặt lọ chứa đệm rửa và lọ chứa cồn 70% vào các kênh hút tương ứng trên máy
- Bước 2: Xây dựng bảng thông tin chạy mẫu “worklist” trên máy: (1) đặt các ống mẫu vào vị trí tương ứng trên máy; (2) tiến hành quét barcode mẫu; (3) chọn phương

pháp tương ứng cho loại xét nghiệm muốn thực hiện; (4) chọn độ pha loãng muốn thực hiện cho từng mẫu; (5) chọn lưu bảng thông tin mẫu “worklist” vừa thiết lập.

- Bước 3: Chọn các vị trí sẽ đặt slide trên phần mềm máy tính, đặt các slide vào vị trí tương ứng trên máy. Số lượng slide phải phù hợp với số lượng mẫu định thực hiện.
- Bước 4: Chọn quét ID của từng slide tương ứng. ID slide sẽ cung cấp thông tin về phương pháp xét nghiệm được sử dụng tương ứng với chất nền trên slide. Kiểm tra kỹ thông tin tương thích với “worklist” đã tạo và vị trí mẫu được hiện thị trước khi tiến hành chạy.
- Bước 5: Chọn start để máy bắt đầu thực hiện xét nghiệm.
- Lưu ý: Sau khi kết thúc xét nghiệm cần tiến hành quy trình vệ sinh tự động của máy xét nghiệm theo hướng dẫn sử dụng của máy để loại bỏ hoàn toàn các tác nhân có nguy cơ lây nhiễm và tránh nhiễm chéo kết quả cho lần chạy tiếp theo.
- Đánh giá kết quả bằng kính hiển vi huỳnh quang (đã tích hợp với phần mềm phân tích kết quả)
- Bước 6: Đọc các mẫu thông thường: vật kính 20x (đối với mô, tế bào infected hoặc transfected), 40x (cơ chất tế bào)
- Bộ lọc kích thích: 450-490 nm, bộ tách màu: 510 nm, bộ lọc chặn: 515 nm.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả chạy chứng:
 - + Chạy chứng dương, chứng âm trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu chứng tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
- Xem xét kết quả chứng:
 - + Nếu kết quả chứng không đạt:
 - Sử dụng mẫu chứng khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - + Nếu kết quả chứng đạt: chất chứng dương cho tín hiệu huỳnh quang sáng rõ ràng, đặc hiệu trong khi chứng âm phải cho tín hiệu huỳnh quang âm tính, tiến hành đọc kết quả xét nghiệm.
- Đọc kết quả và nhận định kết quả:
 - + Kết quả được đánh giá bằng kính hiển vi huỳnh quang đã tích hợp với phần mềm đọc kết quả tự động với:
 - + Phản ứng dương tính (hình ảnh cho tín hiệu huỳnh quang): tự kháng thể phản ứng với kháng nguyên đích trên bề mặt của chất nền tạo tín hiệu huỳnh quang đặc hiệu.

+ Phản ứng âm tính: kết quả không cho tín hiệu huỳnh quang hoặc các phản ứng bắt màu huỳnh quang không đặc hiệu

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm: Máu không được bảo quản đúng cách làm biến tính các tự kháng thể.

Giải pháp: Lấy lại mẫu máu. Mẫu máu cần được bảo quản ở 2-8°C, sử dụng trong vòng 14 ngày

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..):

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Trang thiết bị:

+ Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

+ Nguồn sáng, bộ lọc và đơn vị quang học của kính hiển vi huỳnh quang có thể ảnh hưởng đến độ nhạy của phương pháp.

Giải pháp: Sử dụng hệ thống hơi thủy ngân truyền thống, sự hoạt động của kính hiển vi sẽ phụ thuộc vào sự bảo trì của thiết bị, đặc biệt là thay thế đèn sau khi hoạt động quá thời gian cho phép.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Sai sót do quá trình cài đặt mẫu vào vị trí không tương ứng với vị trí đã cài đặt trên phần mềm

Giải pháp: Kiểm tra thông tin lại trên miền làm việc “work list” về phương pháp, vị trí đặt mẫu, thứ tự các mẫu sau khi đã khai báo

- Xử lý sai các slide trong quá trình nhuộm, đặc biệt để các slide bị khô giữa các bước sẽ dẫn đến “rửa trôi” hình ảnh và/ hoặc hình ảnh nhuộm bị sáng màu.

Giải pháp: Làm lại xét nghiệm, tuân thủ đúng các bước quy trình, kiểm soát tốt nhiệt độ phòng xét nghiệm (25°C).

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tebo ae. Recent approaches to optimize laboratory assessment of antinuclear antibodies. Clin vaccine immunol. 2017 dec 5;24(12):e00270-17.
2. Vercammen m, bonroy c, broeders s, chan ekl, bizzaro n, bogdanos dp, andrade l, coucke w, de melo cruvinel w, kozmar a, kuhi l, lutteri l, rego de sousa mj, schouwens s, van hoovels l, bossuyt x; eflm working group on autoimmunity testing. Analytical aspects of the antinuclear antibody test by hep-2 indirect immunofluorescence: eflm report on an international survey. Clin chem lab med. 2023 mar 30;61(7):1199-1208.
3. Olsen nj, choi my, fritzler mj. Emerging technologies in autoantibody testing for rheumatic diseases. Arthritis res ther. 2017 jul 24;19(1):172.
4. Mahler m, fritzler mj. The clinical significance of the dense fine speckled immunofluorescence pattern on hep-2 cells for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. Clin dev immunol. 2012;2012:494356.
5. Ling m, murali m. Antinuclear antibody tests. Clin lab med. 2019 dec;39(4):513-524.
6. Damoiseaux j, andrade lec, carballo og, conrad k, francescantonio plc, fritzler mj, garcia de la torre i, herold m, klotz w, cruvinel wm, mimori t, von muhlen c, satoh m, chan ek. Clinical relevance of hep-2 indirect immunofluorescent patterns: the international consensus on ana patterns (icap) perspective. Ann rheum dis. 2019 jul;78(7):879-889.

39. PHÁT HIỆN CÁC TỰ KHÁNG THỂ TRONG BỆNH TỰ MIỄN BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH HUỖNH QUANG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện các Immunoglobulin của người bằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang hỗ trợ chẩn đoán bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Sử dụng kỹ thuật huỳnh quang gián tiếp (IIFT) phát hiện phức hợp kháng nguyên - kháng thể dưới kính hiển vi huỳnh quang. Trong đó, mẫu bệnh phẩm đã pha loãng được ủ với chất nền đặc hiệu biểu hiện các kháng nguyên đích. Nếu phản ứng dương tính xảy ra, các kháng thể đặc hiệu IgA, IgG và IgM trong mẫu bệnh phẩm kháng các kháng nguyên đích cần phát hiện sẽ gắn vào các kháng nguyên của chất nền. Để phát hiện sự xuất hiện của phức hợp kháng nguyên - kháng thể, quá trình ủ lần thứ hai được thực hiện với kháng thể đặc hiệu Anti-IgG (hoặc IgA/ IgM) được đánh dấu FITC và có thể được phát hiện dưới kính hiển vi huỳnh quang.

Phát hiện các kháng thể đặc hiệu lớp IgG của người kháng lại các Immunoglobulin trong mẫu bệnh phẩm.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Bình thủy tinh 1 lít pha dung dịch rửa
- Bình đựng ngâm lam
- Cốc đông
- Khay hóa chất
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Kít hóa chất (đệm pha loãng mẫu, hóa chất pha dung dịch rửa)

- Chất kết gán để phủ kính dày
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Slide
- Lame kính
- Chất gắn kết để dày kính
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

2.3.1. Máy bán tự động

- Kính hiển vi huỳnh quang kèm camera
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Tủ hồ sơ
- Máy lưu điện
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.3.2. Máy tự động

- Hệ thống máy miễn dịch huỳnh quang tự động
- Kính hiển vi huỳnh quang tích hợp phần mềm đọc kết quả
- Máy chuẩn bị slide tự động
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Tủ hồ sơ
- Máy lưu điện
- Thùng đựng rác tái chế

- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- + Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông EDTA, Heparin.
- + Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: Trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống máu: Thể tích 3-5ml
- + Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, Heparin hoặc Citrat. Dịch não tủy (CSF) đối với một số các xét nghiệm phát hiện tự kháng thể trong bệnh viêm não tự miễn
- Mẫu máu: Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, máu không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: Trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác
- Các slide đã được phủ mô/ tế bào có biểu hiện kháng nguyên đích và được bảo bản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Các loại chứng bao gồm chứng âm, chứng dương
- Kháng thể kháng IgG người được gắn FITC
- Kít hóa chất (đệm pha loãng mẫu, hóa chất pha dung dịch rửa)
- Chất kết gán để phủ kính đậy
- Chuẩn bị dung dịch rửa: dung dịch rửa sau khi được chuẩn bị cần được bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 1 tuần. Lưu ý không sử dụng dung dịch rửa đã bị đục hoặc xuất hiện nhiễm bẩn.
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của bộ xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Bước 1: Ủ 30 µl mẫu đã pha loãng với các slide có gắn chất nền tương ứng. Đảm bảo rằng mỗi mẫu đều liên kết với miền phản ứng có chứa chất nền đặc hiệu của nó và những mẫu riêng lẻ không lẫn vào nhau. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng (+18°C đến +25°C).
- Bước 2: Xả rửa nhanh các slide với đệm rửa. Sử dụng bình ngâm lam dạng đứng để ngâm ngập các slide với đệm rửa ít nhất 5 phút
- Bước 3: Ủ lần 2 các slide phản ứng với 25 µl kháng thể anti-igg đặc hiệu gắn nhãn huỳnh quang: sau khi lấy các slide ra khỏi bình ngâm lam, lau khô phần lưng và cạnh của slide bằng khăn giấy, đập mạnh các cạnh của slide vào khăn giấy với mục đích loại bỏ phần lớn các dung dịch đệm của quá trình ngâm rửa. Ngay lập tức thực hiện

quá trình ủ với kháng thể anti-igg đặc hiệu gắn nhãn huỳnh quang trong vòng 30 phút ở nhiệt độ phòng (+18°C đến +25°C). Kiểm tra tương tác chính xác giữa các vùng phản ứng và hóa chất.

- Lưu ý: Quá trình thực hiện phải nhanh chóng tránh để bề mặt gắn chất nền trên slide bị khô - thực hiện trong vòng 5s. Không chạm vào khu vực phản ứng chưa các chất nền gắn. Kháng thể Anti-IgG người gắn nhãn huỳnh quang nên được trộn đều trước khi dùng. Quá trình ủ cần tránh ánh sáng trực tiếp.
- Bước 4: Bỏ sung đầy dung dịch rửa vào bình ngâm lam. Xối rửa slide bằng đệm rửa sau đó tiếp tục ngâm slide vào đệm rửa trong bình ngâm lam ít nhất 5 phút.
- Bước 5: Chuẩn bị đọc mẫu: nhỏ khoảng 10μl dung dịch kết dính lên kính phủ, úp ngược các slide lên kính phủ để chuẩn bị đọc kết quả.
- Bước 6: Đọc bằng kính hiển vi huỳnh quang.
- Đọc các mẫu thông thường: vật kính 20x (đối với mô, tế bào Infected hoặc Transfected), 40x (cơ chất tế bào)
- Bộ lọc kích thích: 450-490 nm, bộ tách màu: 510 nm, bộ lọc chặn: 515 nm.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả chạy chứng:
 - + Chạy chứng dương, chứng âm trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu chứng tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
- Xem xét kết quả chứng:
 - + Nếu kết quả chứng không đạt: Sử dụng mẫu chứng khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - + Nếu kết quả chứng đạt: Chất chứng dương cho tín hiệu huỳnh quang sáng rõ ràng, đặc hiệu trong khi chứng âm phải cho tín hiệu huỳnh quang âm tính, tiến hành đọc kết quả xét nghiệm.
- Đọc kết quả và nhận định kết quả: Kết quả được đánh giá bằng kính hiển vi huỳnh quang đã định tích hợp với phần mềm đọc kết quả tự động với:
 - + Phản ứng dương tính (hình ảnh cho tín hiệu huỳnh quang): tự kháng thể phản ứng với kháng nguyên đích trên bề mặt của chất nền tạo tín hiệu huỳnh quang đặc hiệu.
 - + Phản ứng âm tính: kết quả không cho tín hiệu huỳnh quang hoặc các phản ứng bắt màu huỳnh quang không đặc hiệu

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, Heparin hoặc Citrat. Dịch não tủy (CSF) đối với một số các xét nghiệm phát hiện tự kháng thể trong bệnh viêm não tự miễn
- Mẫu máu: Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, máu không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.

Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: Trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác
- Các slide đã được phủ mô/ tế bào có biểu hiện kháng nguyên đích và được bảo bản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Các loại chứng bao gồm chứng âm, chứng dương
- Kháng thể kháng IgG người được gắn FITC
- Kit hóa chất (đệm pha loãng mẫu, hóa chất pha dung dịch rửa)
- Chất kết gán để phủ kính dày
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Dung dịch rửa sau khi được chuẩn bị cần được bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 1 tuần. Lưu ý không sử dụng dung dịch rửa đã bị đục hoặc xuất hiện nhiễm bẩn.
- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của bộ xét nghiệm.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

Thao tác trên máy xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang

- Bước 1: Bật máy, kiểm tra bình thải trống và bình chứa dung dịch rửa hệ thống phải được bổ sung đầy trước khi tiến hành chạy máy. Đặt lọ chứa đệm rửa và lọ chứa cồn 70% vào các kênh hút tương ứng trên máy
- Bước 2: Xây dựng bảng thông tin chạy mẫu “worklist” trên máy: (1) đặt các ống mẫu vào vị trí tương ứng trên máy; (2) tiến hành quét barcode mẫu; (3) chọn phương pháp tương ứng cho loại xét nghiệm muốn thực hiện; (4) chọn độ pha loãng muốn thực hiện cho từng mẫu; (5) chọn lưu bảng thông tin mẫu “worklist” vừa thiết lập.

- Bước 3: Chọn các vị trí sẽ đặt slide trên phần mềm máy tính, đặt các slide vào vị trí tương ứng trên máy. Số lượng slide phải phù hợp với số lượng mẫu định thực hiện.
- Bước 4: Chọn quét ID của từng slide tương ứng. ID slide sẽ cung cấp thông tin về phương pháp xét nghiệm được sử dụng tương ứng với chất nền trên slide. Kiểm tra kỹ thông tin tương thích với “worklist” đã tạo và vị trí mẫu được hiện thị trước khi tiến hành chạy.
- Bước 5: Chọn start để máy bắt đầu thực hiện xét nghiệm.
- Lưu ý: Sau khi kết thúc xét nghiệm cần tiến hành quy trình vệ sinh tự động của máy xét nghiệm theo hướng dẫn sử dụng của máy để loại bỏ hoàn toàn các tác nhân có nguy cơ lây nhiễm và tránh nhiễm chéo kết quả cho lần chạy tiếp theo.
- Đánh giá kết quả bằng kính hiển vi huỳnh quang (đã tích hợp với phần mềm phân tích kết quả)
- Bước 6: Đọc các mẫu thông thường: vật kính 20x (đối với mô, tế bào Infected hoặc Transfected), 40x (cơ chất tế bào)
- Bộ lọc kích thích: 450-490 nm, bộ tách màu: 510 nm, bộ lọc chặn: 515 nm.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả chạy chứng:
 - + Chạy chứng dương, chứng âm trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu chứng tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
- Xem xét kết quả chứng:
 - + Nếu kết quả chứng không đạt: Sử dụng mẫu chứng khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - + Nếu kết quả chứng đạt: Chốt chứng dương cho tín hiệu huỳnh quang sáng rõ ràng, đặc hiệu trong khi chứng âm phải cho tín hiệu huỳnh quang âm tính, tiến hành đọc kết quả xét nghiệm.
- Đọc kết quả và nhận định kết quả: Kết quả được đánh giá bằng kính hiển vi huỳnh quang đã định tích hợp với phần mềm đọc kết quả tự động với:
 - + Phản ứng dương tính (hình ảnh cho tín hiệu huỳnh quang): tự kháng thể phản ứng với kháng nguyên đích trên bề mặt của chất nền tạo tín hiệu huỳnh quang đặc hiệu.
 - + Phản ứng âm tính: Kết quả không cho tín hiệu huỳnh quang hoặc các phản ứng bất màu huỳnh quang không đặc hiệu

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm: Máu không được bảo quản đúng cách làm biến tính các tự kháng thể.

Giải pháp: Lấy lại mẫu máu. Mẫu máu cần được bảo quản ở 2-8°C, sử dụng trong vòng 14 ngày

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..):

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Trang thiết bị:

+ Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

+ Nguồn sáng, bộ lọc và đơn vị quang học của kính hiển vi huỳnh quang có thể ảnh hưởng đến độ nhạy của phương pháp.

Giải pháp: Sử dụng hệ thống hơi thủy ngân truyền thống, sự hoạt động của kính hiển vi sẽ phụ thuộc vào sự bảo trì của thiết bị, đặc biệt là thay thế đèn sau khi hoạt động quá thời gian cho phép.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Sai sót do quá trình cài đặt mẫu vào vị trí không tương ứng với vị trí đã cài đặt trên phần mềm

Giải pháp: Kiểm tra thông tin lại trên miền làm việc “work list” về phương pháp, vị trí đặt mẫu, thứ tự các mẫu sau khi đã khai báo

- Xử lý sai các slide trong quá trình nhuộm, đặc biệt để các slide bị khô giữa các bước sẽ dẫn đến “rửa trôi” hình ảnh và/ hoặc hình ảnh nhuộm bị sáng màu.

Giải pháp: Làm lại xét nghiệm, tuân thủ đúng các bước quy trình, kiểm soát tốt nhiệt độ phòng xét nghiệm (25°C).

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tebo ae. Recent approaches to optimize laboratory assessment of antinuclear antibodies. Clin vaccine immunol. 2017 dec 5;24(12):e00270-17.
2. Vercammen m, bonroy c, broeders s, chan ekl, bizzaro n, bogdanos dp, andrade l, coucke w, de melo cruvinel w, kozmar a, kuhi l, lutteri l, rego de sousa mj, schouwens s, van hoovels l, bossuyt x; eflm working group on autoimmunity testing. Analytical aspects of the antinuclear antibody test by hep-2 indirect immunofluorescence: eflm report on an international survey. Clin chem lab med. 2023 mar 30;61(7):1199-1208.
3. Olsen nj, choi my, fritzler mj. Emerging technologies in autoantibody testing for rheumatic diseases. Arthritis res ther. 2017 jul 24;19(1):172.
4. Mahler m, fritzler mj. The clinical significance of the dense fine speckled immunofluorescence pattern on hep-2 cells for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. Clin dev immunol. 2012;2012:494356.
5. Ling m, murali m. Antinuclear antibody tests. Clin lab med. 2019 dec;39(4):513-524.
6. Damoiseaux j, andrade lec, carballo og, conrad k, francescantonio plc, fritzler mj, garcia de la torre i, herold m, klotz w, cruvinel wm, mimori t, von muhlen c, satoh m, chan ek. Clinical relevance of hep-2 indirect immunofluorescent patterns: the international consensus on ana patterns (icap) perspective. Ann rheum dis. 2019 jul;78(7):879-889.

40. CÁC TỰ KHÁNG THỂ TRONG VIÊM CƠ TỰ MIỄN BẰNG KỸ THUẬT SẮC KÝ THANH GIẤY (18 LOẠI)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện các tự kháng thể kháng với 18 loại kháng nguyên Mi-2 α , Mi-2 β , TIF1 γ , MDA5, NXP2, SAE1, Ku, PM-Scl100, PM-Scl75, Jo-1, SRP, PL-7, PL-12, EJ, OJ, Ro-52, cN-1A và HMGCR trong mẫu bệnh phẩm để hỗ trợ chẩn đoán bệnh viêm da cơ, viêm đa cơ, viêm cơ vô căn, viêm cơ ở người già (IBM), hội chứng kháng enzyme tổng hợp, viêm cơ hoại tử và các hội chứng chồng lấp khác - phát hiện đa tự kháng thể trong viêm cơ tự miễn (18 loại).

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Thanh giấy có gắn các kháng nguyên tinh khiết được ủ với bệnh phẩm pha loãng, nếu trong bệnh phẩm có chứa các tự kháng thể, các kháng thể đặt hiệu này sẽ gắn với các kháng nguyên tương ứng. Để phát hiện các kháng thể đã gắn, bước ủ thứ hai sẽ được thực hiện với kháng thể gắn enzym đánh dấu, sau đó cơ chất sẽ được thêm vào để xúc tác cho phản ứng tạo màu.

Xét nghiệm phát hiện đa tự kháng thể đặc hiệu lớp IgG của người kháng lại 18 loại kháng nguyên: Mi-2 α , Mi-2 β , TIF1 γ , MDA5, NXP2, SAE1, Ku, PM-Scl100, PM-Scl75, Jo-1, SRP, PL-7, PL-12, EJ, OJ, Ro-52, cN-1A và HMGCR

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng pipet man
- Khay ủ
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch đệm

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch rửa bệnh phẩm
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất ngoại kiểm
- HCSP chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu 3ml
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm sắc ký miễn dịch (quy trình máy bán tự động)
- Hệ thống máy xét nghiệm sắc ký miễn dịch tự động (quy trình máy tự động)
- Máy tính

- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Máy lắc
- Máy ủ
- Máy scan
- Máy sấy
- Đồng hồ bấm giờ
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy lưu điện
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- + Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông EDTA, hoặc Citrat.
- + Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết): Bệnh phẩm dùng cho phân tích được pha loãng theo hướng dẫn của bộ xét nghiệm với dung dịch đệm. Sử dụng đầu côn sạch trong quá trình thao tác
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống máu: thể tích 3-5ml
- + Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3-4 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, hoặc Citrat.
- Mẫu máu: lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, máu không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: Trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác
- Các thanh xét nghiệm đã được phủ kháng nguyên đích và được bảo bản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Chất cộng hợp: Kháng thể của dê kháng IgG của người gắn Alkaline Phosphatase
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch rửa: Pha loãng 10 lần dạng cô đặc với nước cất 2 lần, đưa dung dịch về nồng độ hoạt động.

- Dung dịch cơ chất
- Khay ủ

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Bước 1: Lấy số thanh thử xét nghiệm theo yêu cầu và đặt vào các giếng trống. (đảm bảo bề mặt của thanh thử không bị hư hỏng). Số trên thanh thử phải được nhìn thấy. Ủ thanh xét nghiệm với 1.5ml đệm trên máy lắc ở nhiệt độ phòng (+18°C đến +25°C) với thời gian tương ứng với hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Sau đó hút sạch.
- Bước 2: Sử dụng đầu côn sạch thêm 1.5ml bệnh phẩm đã được pha loãng ủ với thanh xét nghiệm ở nhiệt độ phòng (+18°C đến +25°C) trên máy lắc với thời gian tương ứng với hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm.
- Bước 3: Hút sạch dung dịch trong các giếng, rửa với 1.5ml dung dịch đệm rửa trong vòng 5 phút ở nhiệt độ phòng. Quá trình được thực hiện trên máy lắc. Lặp lại bước này 3 lần.
- Bước 4: Thêm 1.5ml kháng thể kháng IgG của người gắn enzyme đã pha loãng về nồng độ hoạt động vào mỗi giếng. Ủ ở nhiệt độ phòng trên máy lắc với thời gian tương ứng với hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm
- Bước 5: Hút sạch dung dịch từ mỗi giếng. Rửa với 1.5ml dung dịch đệm rửa trong vòng 5 phút ở nhiệt độ phòng. Quá trình được thực hiện trên máy lắc. Lặp lại bước này 3 lần.
- Bước 6: Thêm dung dịch cơ chất vào mỗi giếng. Ủ ở nhiệt độ phòng trên máy lắc với thời gian theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm.
- Bước 7: Hút sạch dung dịch từ mỗi giếng. Dừng phản ứng và rửa sạch thanh bằng 1.5ml nước ro hoặc nước cất theo hướng dẫn sử dụng của bộ kit xét nghiệm. Quy trình được thực hiện trên máy lắc.
- Bước 8: Đặt thanh thử lên giấy, chờ khô và đánh giá kết quả bằng phần mềm.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả chạy chứng:
 - + Trên mỗi thanh xét nghiệm đều có một vạch chứng dương đảm bảo tiêu chuẩn chất lượng cho quá trình thực hiện cho từng xét nghiệm. Cần đảm bảo mỗi mẫu bệnh phẩm cho ra kết quả vạch kháng nguyên chứng dương tính mạnh mới được coi là một kết quả đạt. Đối với một kết quả không đạt (vạch chứng không lên hoặc lên yếu) cần được tiến hành tìm hiểu nguyên nhân, khắc phục nguyên nhân và chạy lại xét nghiệm đó.
 - + Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy trình thực hiện nội kiểm
- Đọc kết quả và nhận định kết quả
 - + Sử dụng phần mềm để đánh giá kết quả
 - + Kết quả được giải thích dựa trên cường độ tín hiệu bao gồm các nhóm sau: âm tính, dương tính, nghi ngờ (khuyến cáo nên kiểm tra lại xét nghiệm sau 1 tuần với mẫu bệnh phẩm mới).

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, hoặc Citrat.
- Mẫu máu: Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, máu không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.

Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác
- Các thanh xét nghiệm đã được phủ kháng nguyên đích và được bảo bản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch rửa: Pha loãng theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Dung dịch cơ chất
- Khay ủ

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Bước 1: Kiểm tra bình thải phải trống và bình đựng dung dịch rửa hệ thống phải được bổ sung đầy.
- Bước 2: Bật máy, máy tiến hành kiểm tra tự động “selftest” tình trạng của thiết bị trước khi chạy.
- Bước 3: Xây dựng bảng thông tin xét nghiệm thực hiện “worklist” bao gồm: mã bệnh phẩm, thông tin cơ bản của bệnh nhân, mã xét nghiệm thực hiện trên phần mềm tương thích.
- Bước 4: Nạp mẫu vào máy và chuẩn bị hóa chất theo hướng dẫn. Để các lọ đựng hóa chất đã chuẩn bị vào các kênh tương ứng theo hướng dẫn của máy
- Bước 5: Đặt thanh thử vào các giếng trên máy tương ứng với số bệnh phẩm cần thực hiện.

- Bước 6: Chọn chương trình chạy tương ứng.
- Bước 7: Chọn start để máy bắt đầu thực hiện xét nghiệm.
- Lưu ý: Cần tiến hành thực hiện vệ sinh thiết bị theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất trước hoặc sau khi thực hiện xét nghiệm để tránh nhiễm chéo giữa các lần thực hiện
- Bước 8: Đánh giá kết quả bằng phần mềm và in kết quả.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả chạy chứng:
 - + Trên mỗi thanh xét nghiệm đều có một vạch chứng dương đảm bảo tiêu chuẩn chất lượng cho quá trình thực hiện cho từng xét nghiệm. Cần đảm bảo mỗi mẫu bệnh phẩm cho ra kết quả vạch kháng nguyên chứng dương tính mạnh mới được coi là một kết quả đạt. Đối với một kết quả không đạt (vạch chứng không lên hoặc lên yếu) cần được tiến hành tìm hiểu nguyên nhân, khắc phục nguyên nhân và chạy lại xét nghiệm đó.
 - + Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy trình thực hiện nội kiểm
- Đọc kết quả và nhận định kết quả
- + Sử dụng phần mềm để đánh giá kết quả
- + Kết quả được giải thích dựa trên cường độ tín hiệu bao gồm các nhóm sau: âm tính, dương tính, nghi ngờ (khuyến cáo nên kiểm tra lại xét nghiệm sau 1 tuần với mẫu bệnh phẩm mới).

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm: Máu không được bảo quản đúng cách làm biến tính các tự kháng thể.

Giải pháp: lấy lại mẫu máu. Mẫu máu cần được bảo quản ở 2-8 °C, sử dụng trong vòng 14 ngày

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..):

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Trang thiết bị: Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật: Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào vị trí phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

- Giải pháp:

+ Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

+ Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Thanh xét nghiệm không được khô hoàn toàn trước khi đánh giá kết quả dẫn đến những vết bám không đặc hiệu hoặc tín hiệu nền bị cao

Giải pháp: Phơi khô hoàn toàn thanh xét nghiệm ở nhiệt độ phòng trước khi tiến hành chụp đánh giá kết quả

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.

- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sun, y., li, z., liang, w. Et al. A novel immunochromatographic strips assay for rapid and simple detection of systemic lupus erythematosus. *Sci rep* 10, 14178 (2020).

2. s h paek, s h lee, j h cho, y s kim. Development of rapid one-step immunochromatographic assay. *Methods*. 2000 sep;22(1):53-60.

3. alexandr e urusov , alina v petrakova, milyausha k gubaydullina, anatoly v zherdev 1, sergei a eremin 1 2, dezhaokong 3, liqiang liu 3, chuanlai xu 3, boris b dzantiev. High-sensitivity immunochromatographic assay for fumonisin b1 based on indirect antibody labeling. *Biotechnol lett*. 2017 may;39(5):751-758.

4. Qin q , wang k , yang j , xu h , cao b , wo y , jin q , cui d. Algorithms for immunochromatographic assay: review and impact on future application. *Analyst*. 2019 sep 23;144(19):5659-5676.

41. CÁC TỰ KHÁNG THỂ TRONG VIÊM GAN TỰ MIỄN BẰNG KỸ THUẬT SẮC KÝ THANH GIẤY (14 LOẠI)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện đa tự kháng thể với 14 loại kháng nguyên AMA-M2, M2-3E, Sp100, gp210, LKM-1, LC-1, SLA/LP, SS-A, Ro-52, CENP A, CENP B và PGDH trong mẫu bệnh phẩm để chẩn đoán xơ gan mật nguyên phát, tăng men gan không rõ nguyên nhân, nghi ngờ viêm gan tự miễn và các hội chứng chồng lấp.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Thanh giấy có gắn các kháng nguyên tinh khiết được ủ với bệnh phẩm pha loãng, nếu trong bệnh phẩm có chứa các tự kháng thể, các kháng thể đặt hiệu này sẽ gắn với các kháng nguyên tương ứng. Để phát hiện các kháng thể đã gắn, bước ủ thứ hai sẽ được thực hiện với kháng thể gắn enzym đánh dấu, sau đó cơ chất sẽ được thêm vào để xúc tác cho phản ứng tạo màu.

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện đa tự kháng thể đặc hiệu nhóm IgG của người kháng lại 14 loại kháng nguyên: AMA-M2, M2-3E, Sp100, GP210, LKM-1, LC-1, SLA/LP, SS-A, Ro-52, CENP A, CENP B và PGDH.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng pipet man
- khay ủ
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch đệm
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm

- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch rửa bệnh phẩm
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Hcsp chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu 3ml
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng)
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm sắc ký miễn dịch (quy trình máy bán tự động)
- Hệ thống máy xét nghiệm sắc ký miễn dịch tự động (quy trình máy tự động)
- Máy tính
- Máy in

- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Máy lắc
- Máy ủ
- Máy scan
- Máy sấy
- Đồng hồ bấm giờ
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy lưu điện
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- + Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông EDTA, hoặc Citrat.
- + Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết): bệnh phẩm dùng cho phân tích được pha loãng theo hướng dẫn của bộ xét nghiệm với dung dịch đệm. Sử dụng đầu côn sạch trong quá trình thao tác
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống máu: thể tích 3-5ml
- + Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 - 4 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định.
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, hoặc Citrat.
- Mẫu máu: lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, máu không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: Trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác
- Các thanh xét nghiệm đã được phủ kháng nguyên đích và được bảo bản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Chất cộng hợp: Kháng thể của dê kháng IgG của người gắn Alkaline phosphatase
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch rửa: Pha loãng 10 lần dạng cô đặc với nước cất 2 lần, đưa dung dịch về nồng độ hoạt động.

- Dung dịch cơ chất: Nitroblue Tetrazolium Chloride/5-Bromo-4-Chloro- 3-Indolylphosphate (nbt/bcip).
- Khay ủ

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Bước 1: Lấy số thanh thử xét nghiệm theo yêu cầu và đặt vào các giếng trống. (đảm bảo bề mặt của thanh thử không bị hư hỏng). Số trên thanh thử phải được nhìn thấy. Ủ thanh xét nghiệm với 1.5ml đệm trên máy lắc ở nhiệt độ phòng (+18°C đến +25°C) với thời gian tương ứng với hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Sau đó hút sạch.
- Bước 2: Sử dụng đầu côn sạch thêm 1.5ml bệnh phẩm đã được pha loãng ủ với thanh xét nghiệm ở nhiệt độ phòng (+18°C đến +25°C) trên máy lắc với thời gian tương ứng với hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm.
- Bước 3: Hút sạch dung dịch trong các giếng, rửa với 1.5ml dung dịch đệm rửa trong vòng 5 phút ở nhiệt độ phòng. Quá trình được thực hiện trên máy lắc. Lặp lại bước này 3 lần.
- Bước 4: Thêm 1.5ml kháng thể kháng igg của người gắn enzyme đã pha loãng về nồng độ hoạt động vào mỗi giếng. Ủ ở nhiệt độ phòng trên máy lắc với thời gian tương ứng với hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm
- Bước 5: Hút sạch dung dịch từ mỗi giếng. Rửa với 1.5ml dung dịch đệm rửa trong vòng 5 phút ở nhiệt độ phòng. Quá trình được thực hiện trên máy lắc. Lặp lại bước này 3 lần.
- Bước 6: Thêm dung dịch cơ chất vào mỗi giếng. Ủ ở nhiệt độ phòng trên máy lắc với thời gian theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm.
- Bước 7: Hút sạch dung dịch từ mỗi giếng. Dừng phản ứng và rửa sạch thanh bằng 1.5ml nước ro hoặc nước cất theo hướng dẫn sử dụng của bộ kit xét nghiệm. Quy trình được thực hiện trên máy lắc.
- Bước 8: Đặt thanh thử lên giấy, chờ khô và đánh giá kết quả bằng phần mềm.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả chạy chứng:
 - + Trên mỗi thanh xét nghiệm đều có một vạch chứng dương đảm bảo tiêu chuẩn chất lượng cho quá trình thực hiện cho từng xét nghiệm. Cần đảm bảo mỗi mẫu bệnh phẩm cho ra kết quả vạch kháng nguyên chứng dương tính mạnh mới được coi là một kết quả đạt. Đối với một kết quả không đạt (vạch chứng không lên hoặc lên yếu) cần được tiến hành tìm hiểu nguyên nhân, khắc phục nguyên nhân và chạy lại xét nghiệm đó.
 - + Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy trình thực hiện nội kiểm
- Đọc kết quả và nhận định kết quả
 - + Sử dụng phần mềm để đánh giá kết quả

+ Kết quả được giải thích dựa trên cường độ tín hiệu bao gồm các nhóm sau: Âm tính, dương tính, nghi ngờ (khuyến cáo nên kiểm tra lại xét nghiệm sau 1 tuần với mẫu bệnh phẩm mới).

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, hoặc Citrat.
- Mẫu máu: Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: Trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ Kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác
- Các thanh xét nghiệm đã được phủ kháng nguyên đích và được bảo bản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch rửa: pha loãng theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Dung dịch cơ chất
- khay ủ

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Bước 1: Kiểm tra bình thải phải trống và bình đựng dung dịch rửa hệ thống phải được bổ sung đầy.
- Bước 2: Bật máy, máy tiến hành kiểm tra tự động “selftest” tình trạng của thiết bị trước khi chạy.
- Bước 3: Xây dựng bảng thông tin xét nghiệm thực hiện “worklist” bao gồm: mã bệnh phẩm, thông tin cơ bản của bệnh nhân, mã xét nghiệm thực hiện trên phần mềm tương thích.
- Bước 4: Nạp mẫu vào máy và chuẩn bị hóa chất theo hướng dẫn. Để các lọ đựng hóa chất đã chuẩn bị vào các kênh tương ứng theo hướng dẫn của máy

- Bước 5: Đặt thanh thử vào các giếng trên máy tương ứng với số bệnh phẩm cần thực hiện.
- Bước 6: Chọn chương trình chạy tương ứng.
- Bước 7: Chọn start để máy bắt đầu thực hiện xét nghiệm.
- Lưu ý: Cần tiến hành thực hiện vệ sinh thiết bị theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất trước hoặc sau khi thực hiện xét nghiệm để tránh nhiễm chéo giữa các lần thực hiện
- Bước 8: Đánh giá kết quả bằng phần mềm và in kết quả.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả chạy chứng:
 - + Trên mỗi thanh xét nghiệm đều có một vạch chứng dương đảm bảo tiêu chuẩn chất lượng cho quá trình thực hiện cho từng xét nghiệm. Cần đảm bảo mỗi mẫu bệnh phẩm cho ra kết quả vạch kháng nguyên chứng dương tính mạnh mới được coi là một kết quả đạt. Đối với một kết quả không đạt (vạch chứng không lên hoặc lên yếu) cần được tiến hành tìm hiểu nguyên nhân, khắc phục nguyên nhân và chạy lại xét nghiệm đó.
 - + Đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy trình thực hiện nội kiểm
- Đọc kết quả và nhận định kết quả
- + Sử dụng phần mềm để đánh giá kết quả
- + Kết quả được giải thích dựa trên cường độ tín hiệu bao gồm các nhóm sau: âm tính, dương tính, nghi ngờ (khuyến cáo nên kiểm tra lại xét nghiệm sau 1 tuần với mẫu bệnh phẩm mới).

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm: Máu không được bảo quản đúng cách làm biến tính các tự kháng thể.

Giải pháp: Lấy lại mẫu máu. Mẫu máu cần được bảo quản ở 2-8 °C, sử dụng trong vòng 14 ngày

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..):

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Trang thiết bị: Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật. Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào vị trí phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

- Giải pháp:

+ Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

+ Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Thanh xét nghiệm không được khô hoàn toàn trước khi đánh giá kết quả dẫn đến những vết bám không đặc hiệu hoặc tín hiệu nền bị cao

Giải pháp: Phơi khô hoàn toàn thanh xét nghiệm ở nhiệt độ phòng trước khi tiến hành chụp đánh giá kết quả

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.

- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sun, y., li, z., liang, w. Et al. A novel immunochromatographic strips assay for rapid and simple detection of systemic lupus erythematosus. Sci rep 10, 14178 (2020).

2. S h paek, s h lee, j h cho, y s kim. Development of rapid one-step immunochromatographic assay. Methods. 2000 sep;22(1):53-60.

3. Alexandr e urusov , alina v petrakova, milyausha k gubaydullina, anatoly v zherdev 1, sergei a eremin 1 2, dezhaokong 3, liqiang liu 3, chuanlai xu 3, boris b dzantiev. High-sensitivity immunochromatographic assay for fumonisin b1 based on indirect antibody labeling. Biotechnol lett. 2017 may;39(5):751-758.

4. Qin q , wang k , yang j , xu h , cao b , wo y , jin q , cui d. Algorithms for immunochromatographic assay: review and impact on future application. Analyst. 2019 sep 23;144(19):5659-5676.

42. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG C5a

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm được sử dụng để phát hiện sự có mặt của kháng thể kháng C5a trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán và theo dõi điều trị các bệnh tự miễn cấp hoặc mạn tính như lupus ban đỏ hệ thống, viêm khớp dạng thấp,.. Theo dõi các bệnh và tình trạng liên quan đến phức hợp miễn dịch như viêm cầu thận, bệnh huyết thanh, viêm mạch, phù mạch di truyền.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm

- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm

- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
 - Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;

- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phần chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm kháng thể kháng C5a của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
- ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

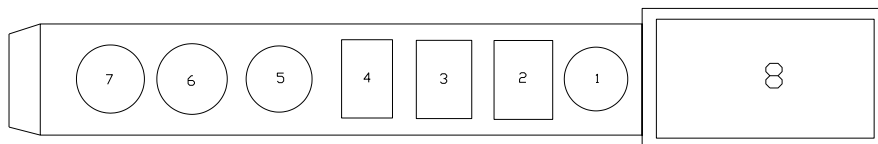
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trống khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trống

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng kháng thể kháng C5a của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

43. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ IgG1

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo tổng lượng các Globulin miễn dịch có trong máu bệnh nhân nhằm sàng lọc, chẩn đoán, theo dõi điều trị sự thiếu hụt miễn dịch IgG1. Xét nghiệm có ý nghĩa cao trong các bệnh lý thiếu hụt miễn dịch liên quan tới các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kháng thể có trong máu bệnh nhân sẽ phản ứng với kháng nguyên trong hóa chất xét nghiệm tạo phức hợp tủa kháng nguyên kháng thể đặc hiệu. Phức hợp tủa này làm đục dung dịch. Sử dụng phương pháp đo độ đục xác định nồng độ kháng thể. Nồng độ kháng thể sẽ tỷ lệ thuận với độ hấp thụ quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Giá cắm đầu côn
- Giá đựng pipet man
- Rack đựng mẫu
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng mẫu
- Dung dịch pha loãng chứng
- Dung dịch rửa ngày
- Dung dịch rửa tuần
- Dung dịch rửa tháng
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- HCSP chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu 3ml
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Cuvette
- Cup đựng mẫu
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Máy tính
- Máy in

- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- + Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: Thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 - 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Khởi động máy theo thứ tự máy phân tích-máy tính để đảm bảo kết nối
- Đăng nhập vào phần mềm bằng user name và password đã thiết lập sẵn, kiểm tra cuvette, bình chứa nước thải và bình chứa nước cất
- Chọn START-UP
- Cho thuốc thử vào buồng lạnh đựng hóa chất, kiểm tra tình trạng thuốc thử F3-REAGENTS
- Tiến hành chạy QC đầu ngày
- Cho mẫu QC vào rack đựng mẫu QC - cho vào buồng chạy mẫu
- Lựa chọn F4-CAL/QC SELECTION cho các test cần tiến hành-START.
- Tiến hành chạy mẫu bệnh phẩm
- Chuẩn bị mẫu máu (huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA) cho vào RACK đựng mẫu theo quy định
- Khai báo thông tin mẫu bệnh phẩm
- Cho mẫu vào buồng chạy mẫu và ấn START

- Lưu toàn bộ xét nghiệm trong ngày sang ổ ARCHIVE
- Tiến hành rửa ngày
- Vào F2-3RACKS lựa chọn rack và vị trí đặt cup dung dịch rửa ngày.
- Chọn CONTROL-WASH SOL
- Cho 500μl dung dịch rửa vào cup cho rack đựng dung dịch rửa vào buồng chạy mẫu - nhấn START
- Tiến hành rửa tuần vào cuối tuần
- Tắt toàn bộ hệ thống máy tính và máy phân tích trước khi rửa tuần
- Thực hiện vệ sinh phần cứng của máy phân tích theo quy định rửa tuần của hãng
- Rửa tháng theo quy định của hãng

4.2. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
- Xem xét kết quả QC:
 - + Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - + Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả
 - ✓ Dựa vào kết quả QC, tiêu chuẩn đánh giá của hãng hóa chất để chấp nhận hay hủy bỏ kết quả định lượng.
 - ✓ Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá từng loại xét nghiệm để nhận định kết quả: Tăng hay thiếu hụt miễn dịch.

BẢNG THAM CHIẾU GIÁ TRỊ DƯỚI NHÓM THEO ĐỘ TUỔI

ĐỘ TUỔI	GIÁ TRỊ THAM CHIẾU (mg/L)			
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
0-2 tuổi	1940-8420	225-3000	186-853	5-784
2-4 tuổi	3150-9450	360-2250	173-676	10-537
4-6 tuổi	3060-9450	605-3450	99-1221	18-1125
6-8 tuổi	2880-9180	440-3750	155-853	4-992

8-10 tuổi	4320-10200	720-4300	127-853	19-932
10-12 tuổi	4230-10600	760-3550	173-1730	16-1150
12-14 tuổi	3420-11500	1000-4550	283-1250	37-1360
14-18 tuổi	3150-8550	640-4950	230-1960	110-1570
>18 tuổi	3824-9286	2418-7003	218.2- 1760.6	39.2-864

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết thanh vàng

+ Huyết thanh tan huyết

+ Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào cuvet không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

+ Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

+ Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Collins-Williams C, Tkachyk SJ, Toft B, Moscarello M. Quantitative immunoglobulin levels (IgG, IgA and IgM) in children. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1967;31(1):94-103
2. Adkinson NF. Immunoassays for IgG subclasses: quantitative and methodologic considerations. *N Engl J Allergy Proc*. 1988 Jan-Feb;9(1):23-9.
3. Shen Q, Fang C, Serpe MJ. Microgel-based etalon immunoassay for IgG detection. *Anal Bioanal Chem*. 2023 Sep;415(23):5645-5656.
4. Movérare R, Blume K, Lind P, Crevel R, Marknell DeWitt Å, Cochrane S. Human Allergen-Specific IgG Subclass Antibodies Measured Using ImmunoCAP Technology. *Int Arch Allergy Immunol*. 2017;172(1):1-10.
5. Kielkopf CL, Bauer W, Urbatsch IL. Methods for Measuring the Concentrations of Proteins. *Cold Spring Harb Protoc*. 2020 Apr 1;2020(4):102277.

44. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ IgG2

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo tổng lượng các Globulin miễn dịch có trong máu bệnh nhân nhằm sàng lọc, chẩn đoán, theo dõi điều trị sự thiếu hụt miễn dịch IgG2, Xét nghiệm có ý nghĩa cao trong các bệnh lý thiếu hụt miễn dịch liên quan tới các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kháng thể có trong máu bệnh nhân sẽ phản ứng với kháng nguyên trong hóa chất xét nghiệm tạo phức hợp tua kháng nguyên kháng thể đặc hiệu. Phức hợp tua này làm đục dung dịch. Sử dụng phương pháp đo độ đục xác định nồng độ kháng thể. Nồng độ kháng thể sẽ tỷ lệ thuận với độ hấp thụ quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng pipet man
- Rack đựng mẫu
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng mẫu
- Dung dịch pha loãng chứng
- Dung dịch rửa ngày
- Dung dịch rửa tuần
- Dung dịch rửa tháng
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- HCSP chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu 3ml
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Cuvette
- Cup đựng mẫu
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Máy tính
- Máy in

- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- + Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2- 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Khởi động máy theo thứ tự máy phân tích-máy tính để đảm bảo kết nối
- Đăng nhập vào phần mềm bằng user name và password đã thiết lập sẵn, kiểm tra cuvette, bình chứa nước thải và bình chứa nước cất
- Chọn START-UP
- Cho thuốc thử vào buồng lạnh đựng hóa chất, kiểm tra tình trạng thuốc thử F3-REAGENTS
- Tiến hành chạy QC đầu ngày
- Cho mẫu QC vào rack đựng mẫu QC - cho vào buồng chạy mẫu
- Lựa chọn F4-CAL/QC SELECTION cho các test cần tiến hành-START.
- Tiến hành chạy mẫu bệnh phẩm
- Chuẩn bị mẫu máu (huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA) cho vào RACK đựng mẫu theo quy định
- Khai báo thông tin mẫu bệnh phẩm
- Cho mẫu vào buồng chạy mẫu và ấn START

- Lưu toàn bộ xét nghiệm trong ngày sang ổ ARCHIVE
- Tiến hành rửa ngày
- Vào F2-3RACKS lựa chọn rack và vị trí đặt cup dung dịch rửa ngày.
- Chọn CONTROL-WASH SOL
- Cho 500μl dung dịch rửa vào cup cho rack đựng dung dịch rửa vào buồng chạy mẫu - nhấn START
- Tiến hành rửa tuần vào cuối tuần
- Tắt toàn bộ hệ thống máy tính và máy phân tích trước khi rửa tuần
- Thực hiện vệ sinh phần cứng của máy phân tích theo quy định rửa tuần của hãng
- Rửa tháng theo quy định của hãng

4.2. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
- Xem xét kết quả QC:
 - + Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - + Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả
 - ✓ Dựa vào kết quả QC, tiêu chuẩn đánh giá của hãng hóa chất để chấp nhận hay hủy bỏ kết quả định lượng.
 - ✓ Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá từng loại xét nghiệm để nhận định kết quả: Tăng hay thiếu hụt miễn dịch.

BẢNG THAM CHIẾU GIÁ TRỊ DƯỚI NHÓM THEO ĐỘ TUỔI

ĐỘ TUỔI	GIÁ TRỊ THAM CHIẾU (mg/L)			
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
0-2 tuổi	1940-8420	225-3000	186-853	5-784
2-4 tuổi	3150-9450	360-2250	173-676	10-537
4-6 tuổi	3060-9450	605-3450	99-1221	18-1125
6-8 tuổi	2880-9180	440-3750	155-853	4-992
8-10 tuổi	4320-10200	720-4300	127-853	19-932

10-12 tuổi	4230-10600	760-3550	173-1730	16-1150
12-14 tuổi	3420-11500	1000-4550	283-1250	37-1360
14-18 tuổi	3150-8550	640-4950	230-1960	110-1570
>18 tuổi	3824-9286	2418-7003	218.2-1760.6	39.2-864

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết thanh vàng

+ Huyết thanh tan huyết

+ Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào cuvet không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

+ Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

+ Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Collins-Williams C, Tkachyk SJ, Toft B, Moscarello M. Quantitative immunoglobulin levels (IgG, IgA and IgM) in children. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1967;31(1):94-103
2. Adkinson NF. Immunoassays for IgG subclasses: quantitative and methodologic considerations. *N Engl J Allergy Proc*. 1988 Jan-Feb;9(1):23-9.
3. Shen Q, Fang C, Serpe MJ. Microgel-based etalon immunoassay for IgG detection. *Anal Bioanal Chem*. 2023 Sep;415(23):5645-5656.
4. Movérare R, Blume K, Lind P, Crevel R, Marknell DeWitt Å, Cochrane S. Human Allergen-Specific IgG Subclass Antibodies Measured Using ImmunoCAP Technology. *Int Arch Allergy Immunol*. 2017;172(1):1-10.
5. Kielkopf CL, Bauer W, Urbatsch IL. Methods for Measuring the Concentrations of Proteins. *Cold Spring Harb Protoc*. 2020 Apr 1;2020(4):102277.

45. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ IgG3

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo tổng lượng các Globulin miễn dịch có trong máu bệnh nhân nhằm sàng lọc, chẩn đoán, theo dõi điều trị sự thiếu hụt miễn dịch IgG3. Xét nghiệm có ý nghĩa cao trong các bệnh lý thiếu hụt miễn dịch liên quan tới các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kháng thể có trong máu bệnh nhân sẽ phản ứng với kháng nguyên trong hóa chất xét nghiệm tạo phức hợp tua kháng nguyên kháng thể đặc hiệu. Phức hợp tua này làm đục dung dịch. Sử dụng phương pháp đo độ đục xác định nồng độ kháng thể. Nồng độ kháng thể sẽ tỷ lệ thuận với độ hấp thụ quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng pipet man
- Rack đựng mẫu
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng mẫu
- Dung dịch pha loãng chứng
- Dung dịch rửa ngày
- Dung dịch rửa tuần
- Dung dịch rửa tháng
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- HCSP chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu 3ml
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Cuvette
- Cup đựng mẫu
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Máy tính
- Máy in

- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- + Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Khởi động máy theo thứ tự máy phân tích-máy tính để đảm bảo kết nối
- Đăng nhập vào phần mềm bằng user name và password đã thiết lập sẵn, kiểm tra cuvette, bình chứa nước thải và bình chứa nước cất
- Chọn START-UP
- Cho thuốc thử vào buồng lạnh đựng hóa chất, kiểm tra tình trạng thuốc thử F3-REAGENTS
- Tiến hành chạy QC đầu ngày
- Cho mẫu QC vào rack đựng mẫu QC - cho vào buồng chạy mẫu
- Lựa chọn F4-CAL/QC SELECTION cho các test cần tiến hành-START.
- Tiến hành chạy mẫu bệnh phẩm
- Chuẩn bị mẫu máu (huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA) cho vào RACK đựng mẫu theo quy định
- Khai báo thông tin mẫu bệnh phẩm
- Cho mẫu vào buồng chạy mẫu và ấn START

- Lưu toàn bộ xét nghiệm trong ngày sang ổ ARCHIVE
- Tiến hành rửa ngày
- Vào F2-3RACKS lựa chọn rack và vị trí đặt cup dung dịch rửa ngày.
- Chọn CONTROL-WASH SOL
- Cho 500μl dung dịch rửa vào cup cho rack đựng dung dịch rửa vào buồng chạy mẫu - nhấn START
- Tiến hành rửa tuần vào cuối tuần
- Tắt toàn bộ hệ thống máy tính và máy phân tích trước khi rửa tuần
- Thực hiện vệ sinh phần cứng của máy phân tích theo quy định rửa tuần của hãng
- Rửa tháng theo quy định của hãng

4.2. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
- Xem xét kết quả QC:
 - + Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - + Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả
 - ✓ Dựa vào kết quả QC, tiêu chuẩn đánh giá của hãng hóa chất để chấp nhận hay hủy bỏ kết quả định lượng.
 - ✓ Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá từng loại xét nghiệm để nhận định kết quả: Tăng hay thiếu hụt miễn dịch.

BẢNG THAM CHIẾU GIÁ TRỊ DƯỚI NHÓM THEO ĐỘ TUỔI

ĐỘ TUỔI	GIÁ TRỊ THAM CHIẾU (mg/L)			
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
0-2 tuổi	1940-8420	225-3000	186-853	5-784
2-4 tuổi	3150-9450	360-2250	173-676	10-537
4-6 tuổi	3060-9450	605-3450	99-1221	18-1125
6-8 tuổi	2880-9180	440-3750	155-853	4-992
8-10 tuổi	4320-10200	720-4300	127-853	19-932

10-12 tuổi	4230-10600	760-3550	173-1730	16-1150
12-14 tuổi	3420-11500	1000-4550	283-1250	37-1360
14-18 tuổi	3150-8550	640-4950	230-1960	110-1570
>18 tuổi	3824-9286	2418-7003	218.2-1760.6	39.2-864

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết thanh vàng

+ Huyết thanh tan huyết

+ Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào cuvet không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

+ Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

+ Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Collins-Williams C, Tkachyk SJ, Toft B, Moscarello M. Quantitative immunoglobulin levels (IgG, IgA and IgM) in children. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1967;31(1):94-103
2. Adkinson NF. Immunoassays for IgG subclasses: quantitative and methodologic considerations. *N Engl J Allergy Proc*. 1988 Jan-Feb;9(1):23-9.
3. Shen Q, Fang C, Serpe MJ. Microgel-based etalon immunoassay for IgG detection. *Anal Bioanal Chem*. 2023 Sep;415(23):5645-5656.
4. Movérare R, Blume K, Lind P, Crevel R, Marknell DeWitt Å, Cochrane S. Human Allergen-Specific IgG Subclass Antibodies Measured Using ImmunoCAP Technology. *Int Arch Allergy Immunol*. 2017;172(1):1-10.
5. Kielkopf CL, Bauer W, Urbatsch IL. Methods for Measuring the Concentrations of Proteins. *Cold Spring Harb Protoc*. 2020 Apr 1;2020(4):102277.

46. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ IgG4

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Đo tổng lượng các Globulin miễn dịch có trong máu bệnh nhân nhằm sàng lọc, chẩn đoán, theo dõi điều trị sự thiếu hụt miễn dịch IgG4. Xét nghiệm có ý nghĩa cao trong các bệnh lý thiếu hụt miễn dịch liên quan tới các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Kháng thể có trong máu bệnh nhân sẽ phản ứng với kháng nguyên trong hóa chất xét nghiệm tạo phức hợp tua kháng nguyên kháng thể đặc hiệu. Phức hợp tua này làm đục dung dịch. Sử dụng phương pháp đo độ đục xác định nồng độ kháng thể. Nồng độ kháng thể sẽ tỷ lệ thuận với độ hấp thụ quang.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Giá cắm đầu côn
- Giá đựng pipet man
- Rack đựng mẫu
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng mẫu
- Dung dịch pha loãng chứng
- Dung dịch rửa ngày
- Dung dịch rửa tuần
- Dung dịch rửa tháng
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- HCSP chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu 3ml
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Cuvette
- Cup đựng mẫu
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Máy tính
- Máy in

- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- + Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Khởi động máy theo thứ tự máy phân tích-máy tính để đảm bảo kết nối
- Đăng nhập vào phần mềm bằng user name và password đã thiết lập sẵn, kiểm tra cuvette, bình chứa nước thải và bình chứa nước cất
- Chọn START-UP
- Cho thuốc thử vào buồng lạnh đựng hóa chất, kiểm tra tình trạng thuốc thử F3-REAGENTS
- Tiến hành chạy QC đầu ngày
- Cho mẫu QC vào rack đựng mẫu QC - cho vào buồng chạy mẫu
- Lựa chọn F4-CAL/QC SELECTION cho các test cần tiến hành-START.
- Tiến hành chạy mẫu bệnh phẩm
- Chuẩn bị mẫu máu (huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA) cho vào RACK đựng mẫu theo quy định
- Khai báo thông tin mẫu bệnh phẩm
- Cho mẫu vào buồng chạy mẫu và ấn START

- Lưu toàn bộ xét nghiệm trong ngày sang ổ ARCHIVE
- Tiến hành rửa ngày
- Vào F2-3RACKS lựa chọn rack và vị trí đặt cup dung dịch rửa ngày.
- Chọn CONTROL-WASH SOL
- Cho 500μl dung dịch rửa vào cup cho rack đựng dung dịch rửa vào buồng chạy mẫu - nhấn START
- Tiến hành rửa tuần vào cuối tuần
- Tắt toàn bộ hệ thống máy tính và máy phân tích trước khi rửa tuần
- Thực hiện vệ sinh phần cứng của máy phân tích theo quy định rửa tuần của hãng
- Rửa tháng theo quy định của hãng

4.2. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
- Xem xét kết quả QC:
 - + Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - + Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả
 - ✓ Dựa vào kết quả QC, tiêu chuẩn đánh giá của hãng hóa chất để chấp nhận hay hủy bỏ kết quả định lượng.
 - ✓ Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá từng loại xét nghiệm để nhận định kết quả: Tăng hay thiếu hụt miễn dịch.

BẢNG THAM CHIẾU GIÁ TRỊ DƯỚI NHÓM THEO ĐỘ TUỔI

ĐỘ TUỔI	GIÁ TRỊ THAM CHIẾU (mg/L)			
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
0-2 tuổi	1940-8420	225-3000	186-853	5-784
2-4 tuổi	3150-9450	360-2250	173-676	10-537
4-6 tuổi	3060-9450	605-3450	99-1221	18-1125
6-8 tuổi	2880-9180	440-3750	155-853	4-992
8-10 tuổi	4320-10200	720-4300	127-853	19-932

10-12 tuổi	4230-10600	760-3550	173-1730	16-1150
12-14 tuổi	3420-11500	1000-4550	283-1250	37-1360
14-18 tuổi	3150-8550	640-4950	230-1960	110-1570
>18 tuổi	3824-9286	2418-7003	218.2-1760.6	39.2-864

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết thanh vàng

+ Huyết thanh tan huyết

+ Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào cuvet không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

+ Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

+ Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Collins-Williams C, Tkachyk SJ, Toft B, Moscarello M. Quantitative immunoglobulin levels (IgG, IgA and IgM) in children. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1967;31(1):94-103
2. Adkinson NF. Immunoassays for IgG subclasses: quantitative and methodologic considerations. *N Engl Reg Allergy Proc.* 1988 Jan-Feb;9(1):23-9.
3. Shen Q, Fang C, Serpe MJ. Microgel-based etalon immunoassay for IgG detection. *Anal Bioanal Chem.* 2023 Sep;415(23):5645-5656.
4. Movérare R, Blume K, Lind P, Crevel R, Marknell DeWitt Å, Cochrane S. Human Allergen-Specific IgG Subclass Antibodies Measured Using ImmunoCAP Technology. *Int Arch Allergy Immunol.* 2017;172(1):1-10.
5. Kielkopf CL, Bauer W, Urbatsch IL. Methods for Measuring the Concentrations of Proteins. *Cold Spring Harb Protoc.* 2020 Apr 1;2020(4):102277.

47. ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU VỚI DỊ NGUYÊN HÔ HẤP (ĐỐI VỚI 1 DỊ NGUYÊN)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên hô hấp mục đích là phát hiện sự có mặt của các kháng thể trong huyết thanh hoặc huyết tương bệnh nhân, giúp chẩn đoán các bệnh liên quan tới dị ứng - miễn dịch.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dị ứng là phản ứng bất thường của cơ thể với kháng nguyên mà được cơ thể tiếp nhận một cách bình thường. Nó dẫn đến tình trạng quá mẫn. Quá mẫn loại I liên quan đến kháng thể IgE. Xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên tìm ra các chất gây dị ứng.

Nguyên lý của xét nghiệm dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể theo phương pháp ELISA Sandwich.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng pipet man
- khay ủ
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch
- Dung dịch mở đầu
- Dung dịch kháng kháng thể
- Dung dịch chất cộng hợp (gắn Enzyme)
- Dung dịch cơ chất

- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất ngoại kiểm
- HCSP chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu 3ml
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Máy lắc
- Máy ủ
- Máy scan
- Máy sấy

- Đồng hồ bấm giờ
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- + Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông, máu không bị đục
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống máu: thể tích 3-5ml
- + Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 - 4 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Huyết thanh,
- Mẫu máu: Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: Trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác
- Wash buffer được pha loãng với nước cất 2 lần theo đúng tỉ lệ và trước khi sử dụng 30 phút để tránh tạo bọt
- Khay ủ
- Máy lắc tốc độ lắc 30 rpm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị thanh, đánh số thứ tự tương ứng với từng bệnh nhân.
- Làm ẩm thanh với 1 ml dung dịch rửa
- Nhỏ 250µl dung dịch mở đầu, lắc ủ 60 giây sau đó loại bỏ dung dịch
- Nhỏ 200 µl huyết thanh của bệnh vào thanh kit, ủ và lắc trong 60 phút.
- Rửa 3 lần với 1 ml dung dịch rửa. Thêm 250 µl dung dịch rửa vào thanh test và lắc ủ trong vòng 5 phút
- Lặp lại bước 7
- Nhỏ 250 µl dung dịch kháng kháng thể vào thanh test sau đó lắc ủ trong vòng 45 phút
- Loại bỏ dung dịch kháng kháng thể trên thanh test và rửa lại 3 lần với 1ml dung dịch rửa
- Thêm 250 µl dung dịch cơ chất gắn enzym vào thanh test và ủ trong vòng 20 phút

- Rửa 3 lần với 1 ml dung dịch rửa. Thêm 250 µl dung dịch rửa vào thanh test và lắc ủ trong vòng 5 phút
- Thêm 250 µl dung dịch cơ chất vào thanh test và ủ trong vòng 20 phút (ủ trong tối)
- Loại bỏ dung dịch dung dịch cơ chất trên thanh và rửa lại 3 lần với 1 ml dung dịch rửa
- Sấy khô và đọc bằng máy Scanner
- Đọc kết quả thông qua máy máy đọc, và phần mềm đọc được cài sẵn trong máy tính.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in kết quả trả cho bệnh nhân

4.2. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả chạy chứng:
 - + Trên mỗi thanh xét nghiệm đều có một vạch chứng dương đảm bảo tiêu chuẩn chất lượng cho quá trình thực hiện cho từng xét nghiệm. Cần đảm bảo mỗi mẫu bệnh phẩm cho ra kết quả vạch kháng nguyên chứng dương tính mạnh mới được coi là một kết quả đạt. Đối với một kết quả không đạt (vạch chứng không lên hoặc lên yếu) cần được tiến hành tìm hiểu nguyên nhân, khắc phục nguyên nhân và chạy lại xét nghiệm đó.
 - + Đảm bảo chất lượng xét nghiệm thực hiện nội kiểm theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Đọc kết quả và nhận định kết quả
- + Sử dụng phần mềm để đánh giá kết quả
- + Kết quả được giải thích dựa trên cường độ tín hiệu bao gồm các nhóm sau: Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ (khuyến cáo thực hiện lại xét nghiệm sau một tuần với mẫu bệnh phẩm mới.)

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm: Máu không được bảo quản đúng cách làm biến tính các tự kháng thể.

Giải pháp: Lấy lại mẫu máu. Mẫu máu cần được bảo quản ở 2-8 °C, sử dụng trong vòng 5 ngày

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..):

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Trang thiết bị: Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào vị trí phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.
- Quá trình ủ rửa không chính xác

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Thanh xét nghiệm không được khô hoàn toàn trước khi đánh giá kết quả dẫn đến những vết bám không đặc hiệu hoặc tín hiệu nền bị cao

Giải pháp: Phơi khô hoàn toàn thanh xét nghiệm ở nhiệt độ phòng trước khi tiến hành chụp đánh giá kết quả

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fall BI, Niessner R. Detection of known allergen-specific IgE antibodies by immunological methods. *Methods Mol Biol.* 2009;509:107-22.
2. John W.Yunginer MD, Staffan Ahlstedt PD, Peyton A.Eggleston MD. Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* Volume 105, Issue 6, Part 1, June 2000, Pages 1077-1084.
3. Ansotegui IJ, Melioli G, Canonica GW, et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organ J.* 2020 Feb; 13(2): 100080.
4. Hamilton RG, Oppenheimer J. Serological IgE Analyses in the Diagnostic Algorithm for Allergic Disease. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2015 Nov-Dec;3(6):833-40

5. Dolen WK. IgE antibody in the serum--detection and diagnostic significance. *Allergy*. 2003 Aug;58(8):717-23.
6. Gevaert P, Wong K, Millette LA, Carr TF. The Role of IgE in Upper and Lower Airway Disease: More Than Just Allergy! *Clin Rev Allergy Immunol*. 2022 Feb;62(1):200-215.

48. ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU VỚI DỊ NGUYÊN THỨC ĂN (ĐỐI VỚI 1 DỊ NGUYÊN)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên thức ăn mục đích là phát hiện sự có mặt của các kháng thể trong huyết thanh hoặc huyết tương bệnh nhân, giúp chẩn đoán các bệnh liên quan tới dị ứng - miễn dịch.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dị ứng là phản ứng bất thường của cơ thể với kháng nguyên mà được cơ thể tiếp nhận một cách bình thường. Nó dẫn đến tình trạng quá mẫn. Quá mẫn loại I liên quan đến kháng thể IgE. Xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên tìm ra các chất gây dị ứng.

Nguyên lý của xét nghiệm dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể theo phương pháp ELISA Sandwich.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

1.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng pipet man
- khay ủ
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

1.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch
- Dung dịch mở đầu
- Dung dịch kháng kháng thể
- Dung dịch chất cộng hợp (gắn Enzyme)
- Dung dịch cơ chất

- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất ngoại kiểm
- HCSP chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

1.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu 3ml
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Máy lắc
- Máy ủ
- Máy scan
- Máy sấy

- Đồng hồ bấm giờ
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- + Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông, máu không bị đục
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
- + Ống máu: thể tích 3-5ml
- + Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3 - 4 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Huyết thanh,
- Mẫu máu: Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C trong vòng 14 ngày. Mẫu bệnh phẩm đã pha loãng nên được thực hiện trong ngày.
- Pha loãng bệnh phẩm (nếu cần thiết) theo hướng dẫn sử dụng của từng loại xét nghiệm. Chú ý: Trộn đều mẫu trước khi tiến hành xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác
- Wash buffer được pha loãng với nước cất 2 lần theo đúng tỉ lệ và trước khi sử dụng 30 phút để tránh tạo bọt
- Khay ủ
- Máy lắc tốc độ lắc 30 rpm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị thanh, đánh số thứ tự tương ứng với từng bệnh nhân.
- Làm ẩm thanh với 1 ml dung dịch rửa
- Nhỏ 250µl dung dịch mở đầu, lắc ủ 60 giây sau đó loại bỏ dung dịch
- Nhỏ 200 µl huyết thanh của bệnh vào thanh kit, ủ và lắc trong 60 phút.
- Rửa 3 lần với 1 ml dung dịch rửa. Thêm 250 µl dung dịch rửa vào thanh test và lắc ủ trong vòng 5 phút
- Lặp lại bước 7
- Nhỏ 250 µl dung dịch kháng kháng thể vào thanh test sau đó lắc ủ trong vòng 45 phút
- Loại bỏ dung dịch kháng kháng thể trên thanh test và rửa lại 3 lần với 1ml dung dịch rửa
- Thêm 250 µl dung dịch cơ chất gắn enzym vào thanh test và ủ trong vòng 20 phút

- Rửa 3 lần với 1 ml dung dịch rửa. Thêm 250 µl dung dịch rửa vào thanh test và lắc ủ trong vòng 5 phút
- Thêm 250 µl dung dịch cơ chất vào thanh test và ủ trong vòng 20 phút (ủ trong tối)
- Loại bỏ dung dịch dung dịch cơ chất trên thanh và rửa lại 3 lần với 1 ml dung dịch rửa
- Sấy khô và đọc bằng máy Scanner
- Đọc kết quả thông qua máy máy đọc, và phần mềm đọc được cài sẵn trong máy tính.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in kết quả trả cho bệnh nhân

4.2. Nhận định kết quả

- Xem xét kết quả chạy chứng:
 - + Trên mỗi thanh xét nghiệm đều có một vạch chứng dương đảm bảo tiêu chuẩn chất lượng cho quá trình thực hiện cho từng xét nghiệm. Cần đảm bảo mỗi mẫu bệnh phẩm cho ra kết quả vạch kháng nguyên chứng dương tính mạnh mới được coi là một kết quả đạt. Đối với một kết quả không đạt (vạch chứng không lên hoặc lên yếu) cần được tiến hành tìm hiểu nguyên nhân, khắc phục nguyên nhân và chạy lại xét nghiệm đó.
 - + Đảm bảo chất lượng xét nghiệm thực hiện nội kiểm theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Đọc kết quả và nhận định kết quả
- + Sử dụng phần mềm để đánh giá kết quả
- + Kết quả được giải thích dựa trên cường độ tín hiệu bao gồm các nhóm sau: Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ (khuyến cáo thực hiện lại xét nghiệm sau một tuần với mẫu bệnh phẩm mới.)

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm: Máu không được bảo quản đúng cách làm biến tính các tự kháng thể.

Giải pháp: Lấy lại mẫu máu. Mẫu máu cần được bảo quản ở 2-8 °C, sử dụng trong vòng 5 ngày

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..):

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Trang thiết bị: Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào vị trí phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.
- Quá trình ủ rửa không chính xác

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Thanh xét nghiệm không được khô hoàn toàn trước khi đánh giá kết quả dẫn đến những vết bám không đặc hiệu hoặc tín hiệu nền bị cao

Giải pháp: Phơi khô hoàn toàn thanh xét nghiệm ở nhiệt độ phòng trước khi tiến hành chụp đánh giá kết quả

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fall BI, Niessner R. Detection of known allergen-specific IgE antibodies by immunological methods. *Methods Mol Biol.* 2009;509:107-22.
2. John W.Yunginer MD, Staffan Ahlstedt PD, Peyton A.Eggleston MD. Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* Volume 105, Issue 6, Part 1, June 2000, Pages 1077-1084.
3. Ansotegui IJ, Melioli G, Canonica GW, et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organ J.* 2020 Feb; 13(2): 100080.
4. Hamilton RG, Oppenheimer J. Serological IgE Analyses in the Diagnostic Algorithm for Allergic Disease. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2015 Nov-Dec;3(6):833-40

5. Dolen WK. IgE antibody in the serum--detection and diagnostic significance. *Allergy*. 2003 Aug;58(8):717-23.
6. Gevaert P, Wong K, Millette LA, Carr TF. The Role of IgE in Upper and Lower Airway Disease: More Than Just Allergy! *Clin Rev Allergy Immunol*. 2022 Feb;62(1):200-215.

49. ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CHẨN ĐOÁN DỊ ỨNG THUỐC (ĐỐI VỚI 1 LOẠI THUỐC)

1. ĐẠI CƯƠNG

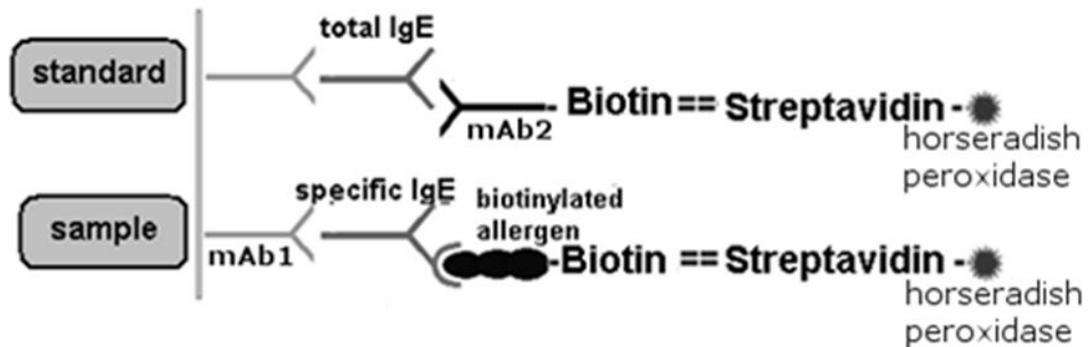
1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên thuốc mục đích là phát hiện sự có mặt của các kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân, giúp chẩn đoán các bệnh liên quan tới dị ứng- miễn dịch.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dị ứng là phản ứng bất thường của cơ thể với kháng nguyên mà được cơ thể tiếp nhận, nó dẫn đến tình trạng quá mẫn. Quá mẫn loại I liên quan đến kháng thể IgE. Xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu với dị nguyên thuốc tìm ra các chất gây dị ứng.

Nguyên lý của xét nghiệm dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể theo phương pháp ELISA Sandwich (Hình 1).



Hình 1. Nguyên lý của phản ứng

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Khay đựng hoá chất sử dụng cho pipet đa kênh, tối thiểu 8 kênh
- Giá cắm đầu côn
- Giá đựng pipet

- khay đựng dị nguyên thuốc
- Cốc chia độ và ống đong có thể tích phù hợp
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Microplate (giếng phản ứng)
- Conjugate E1 (Cộng hợp E1)
- Conjugate E2 (Cộng hợp E2)
- IgE calibrators (bộ hiệu chuẩn IgE)
- IgE control (chứng dương IgE)
- Substrate (TMBsolution) - Cơ chất
- Concentratedwashsolution (dung dịch rửa đậm đặc)
- Stopsolution (dung dịch dừng phản ứng)
- Các dị nguyên đã được biotin hóa
- Chứng dương IgE đặc hiệu và chứng âm
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5mL
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu 3mL
- Pipet pasteur nhựa
- Đầu cân vàng
- Đầu cân xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên

- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế có chứa enzyme Savinase 16 lex (protease) và < 5% chất hoạt động bề mặt chứa anion, < 5% chất hoạt động bề mặt không chứa ion, < 5% polycacboxylate, chất chống ăn mòn; (can 1000ml)
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Hệ thống máy xét nghiệm tự động
- Máy ủ/ máy lắc (37 °C, tốc độ lắc 500-800 vòng/phút)
- Máy rửa tự động hoặc thủ công
- Máy đọc ELISA đã hiệu chuẩn có các bước sóng phù hợp (450 nm, 405 nm, 620 nm)
- Đồng hồ
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy lưu điện
- Tủ hồ sơ
- Bàn nhận mẫu
- Bàn làm xét nghiệm
- Tủ đựng vật tư tiêu hao
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Giá inox để vật tư 3 tầng
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống máu tĩnh mạch vào ống không có chứa chất chống đông

2.4.2. Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:

- Ống máu: thể tích 3-5mL, máu không bị đục, máu không bị vỡ hồng cầu
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở 2 - 8°C không quá 2 ngày, đông lạnh ở nhiệt độ -20°C hoặc thấp hơn để bảo quản lâu hơn (nhưng không quá 3 tháng). Tránh đông băng, tan chảy nhiều lần.
- Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm phải để ở nhiệt độ phòng trước khi làm xét nghiệm.
- Mẫu bệnh phẩm đảm bảo chất lượng: điều kiện bảo quản mẫu, máu không bị vỡ hồng cầu, máu không bị đục).
- Kiểm tra đối chiếu các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Microplate (giếng phản ứng) để ở nhiệt độ phòng (18-25°C) trong ít nhất 30 phút trước khi làm xét nghiệm, chuẩn bị Microplate (giếng phản ứng), đánh số thứ tự tương ứng với từng bệnh nhân.

- Tất cả các hóa chất của bộ kit xét nghiệm cần được để ổn định ở nhiệt độ phòng (18-25°C) ít nhất 30 phút trước khi thực hiện thao tác
- Dung dịch rửa được pha loãng với nước cất 2 lần theo đúng tỉ lệ và trước khi sử dụng 30 phút để tránh tạo bọt
- Máy ủ/ máy lắc (7 °C, tốc độ lắc 500-800 vòng/phút)

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Sử dụng giếng A1 (hoặc A1-A2 nếu lặp lại) làm giếng trắng “blank well”.
- Hút 50 μ L CAL từ 0-6, CONTROL hoặc mẫu bệnh phẩm vào các giếng tương ứng
- Hút 100 μ L CONJ E1 vào mỗi giếng có chứa CAL và CONTROL.
- Hút 100 μ L chất dị nguyên phù hợp vào mỗi giếng chứa mẫu bệnh phẩm.
- Ủ và lắc ở 37°C trong 60 phút, tốc độ lắc 500- 800 vòng/phút.
- Loại bỏ dung dịch trong các giếng, sau đó rửa 5 lần toàn bộ các giếng với 300 μ L dung dịch rửa. Đảm bảo không còn bọt khí và dung dịch rửa đã được hút sạch ở lần rửa cuối cùng.
- Hút 150 μ L CONJ E2 vào mỗi giếng ngoại trừ giếng trắng “blank well”.
- Ủ và lắc ở 37°C trong 30 phút, tốc độ lắc 500- 800 vòng/phút.
- Loại bỏ dung dịch trong các giếng, lặp lại bước 6.
- Hút ngay lập tức 100 μ L cơ chất (TMB) vào mỗi giếng. Ủ và lắc ở 37°C trong 15 phút trong buồng tối, tốc độ lắc 500 - 800 vòng/phút.
- Hút 100 μ L dung dịch dừng phản ứng (STOP) vào toàn bộ các giếng và lắc đều trong vòng 1-2 phút ở nhiệt độ phòng;
- Đọc giá trị OD tại bước sóng 450nm, 405nm và 620nm (bước sóng tham chiếu).
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in kết quả trả cho bệnh nhân

Lưu ý:

- Mỗi giếng phản ứng được sử dụng để xét nghiệm một mẫu huyết thanh với một dị nguyên hoặc hỗn hợp các dị nguyên. Số giếng phản ứng cần thiết cho một mẫu bệnh phẩm phụ thuộc vào số chất dị nguyên hoặc hỗn hợp chất dị nguyên được xét nghiệm và số lần lặp lại.
- Tổng thời gian nhỏ chất chuẩn và mẫu không được quá 15 phút, chất dị nguyên không quá 10 phút, nếu không kết quả xét nghiệm có thể không đáng tin cậy, vì thời gian ủ khác nhau sẽ cho kết quả khác nhau đáng kể đối với các mẫu.

4.2. Nhận định kết quả

- Sử dụng phần mềm đọc để phân tích dữ liệu (OD) của các mẫu, đọc giá trị OD tại bước sóng 450nm, 405nm và 620nm (bước sóng tham chiếu).
- Xây dựng hai đường cong chuẩn (OD/nồng độ IgE đặc hiệu trong chất hiệu chuẩn [IU/mL]). Để vẽ đường cong chuẩn số 1 (xem Hình 2A), sử dụng kết quả đo của

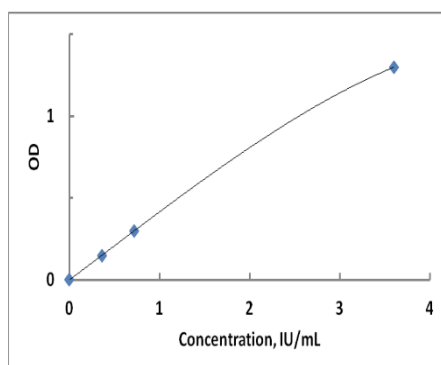
chất hiệu chuẩn 0...3 ở bước sóng 450nm và đường cong chuẩn số 2 (xem Hình 2B), sử dụng kết quả đo của chất hiệu chuẩn 0...6 ở bước sóng 405nm.

- Xử lý dữ liệu được thực hiện bằng phân trên máy tính, tính toán OD trung bình của chất chuẩn so với nồng độ IgE đặc hiệu tương ứng của chúng bằng cách sử dụng 4PL fit.
- Xác định nồng độ IgE đặc hiệu của mẫu như sau:
- + Sử dụng đường cong chuẩn số 1 (Hình 2A) nếu OD mẫu (ở 450nm) nhỏ hơn hoặc bằng OD Cal 3;
- + Sử dụng đường cong chuẩn #2 (Hình 2B) nếu OD mẫu (ở 450nm) lớn hơn OD Cal 3.
- Lưu ý: Nếu sử dụng bước sóng tham chiếu (620nm), OD của các chất chuẩn 0...6, chất đối chứng và các mẫu đo ở 620nm phải được trừ đi OD đo ở 450nm hoặc 405nm tương ứng:

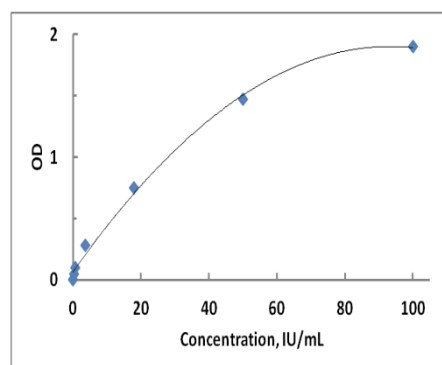
$$OD = OD(450/405 \text{ nm}) - OD(620 \text{ nm}).$$

Những kết quả này được sử dụng để vẽ đường cong chuẩn #1 và #2 và để xác định nồng độ của mẫu bệnh phẩm.

VÍ DỤ TIÊU BIỂU VỀ ĐƯỜNG CONG TIÊU CHUẨN *Vui lòng không sử dụng nó để tính toán!*



Hình 2A. Ví dụ về đường chuẩn ở 450 nm



Hình 2B. Ví dụ về đường chuẩn ở bước sóng 405 nm

Dữ liệu sau khi được phân tích phải đáp ứng các tiêu chí sau:

- OD mẫu trắng (trong giếng A1 hoặc trung bình của các giếng A1-A2) $\leq 0,09$;
- Nồng độ các chất chuẩn phải nằm trong phạm vi chấp nhận được ghi trên nhãn lọ;
- OD Cal 6 trung bình (ở 405nm) $> 1,500$.

Xem xét chạy chứng và đảm bảo chất lượng xét nghiệm theo quy trình thực hiện nội kiểm- QTQL.11

Nếu dữ liệu đáp ứng được các tiêu chí trên ta có bảng giá trị tham khảo như sau:

GIÁ TRỊ THAM KHẢO

Nồng độ IgE, IU/mL	Mức	Mức độ IgE đặc hiệu
< 0.36	0	Không có ý nghĩa lâm sàng
0.36 - 0.71	1	Rất thấp
0.72 - 3.59	2	Thấp
3.60 - 17.99	3	Trung bình
18.00 - 49.99	4	Cao
50.00 - 100.00	5	Rất cao
> 100.00	6	Cực kỳ cao

Nếu dữ liệu thu được không đáp ứng các tiêu chí trên, kết quả được coi là không đáng tin cậy và phải lặp lại thử nghiệm.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Mẫu bệnh phẩm:
- + Máu không được bảo quản đúng cách làm biến tính các tự kháng thể.
- + Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp:

- + Lấy lại mẫu máu. Mẫu máu cần được bảo quản ở 2 - 8°C không quá 2 ngày, mẫu đông lạnh ở nhiệt độ -20°C hoặc thấp hơn để bảo quản lâu hơn (nhưng không quá 3 tháng). Tránh đông băng, tan chảy nhiều lần.
- + Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm
- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..):

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Trang thiết bị: Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào vị trí phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.
- Quá trình ủ rửa không chính xác

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. ZhikangPeng, MD robert, M.Naclerio, Mdphilip, S.Norman, MDN.Franklin. Quantitative IgE- and IgG-subclass responses during and after long-term ragweed immunotherapy, Journal of Allergy and Clinical Immunology. Volume 89, Issue 2, February 1992, Pages 519-529.
2. John W.Yunginer MD, Staffan Ahlstedt PD, Peyton A.Eggleston MD. Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases
3. Journal of Allergy and Clinical Immunology. Volume 105, Issue 6, Part 1, June 2000, Pages 1077-1084

50. ĐỊNH LƯỢNG ELISA CHẨN ĐOÁN DỊ ỨNG THUỐC (ĐỐI VỚI 1 LOẠI THUỐC)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Xét nghiệm hỗ trợ chẩn đoán dị ứng thuốc.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đông thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm

- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất

- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn định lượng Elisa chẩn đoán dị ứng thuốc (Đối với 1 loại thuốc) của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

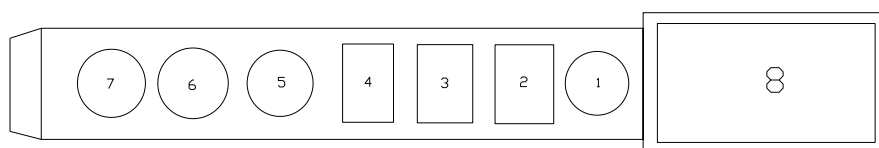
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng ELISA chẩn đoán dị ứng thuốc của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

51. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN - 1 α HUMAN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ Interleukin - 1 α human trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán nhiễm trùng, viêm trong các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn;
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô

- Tủ âm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 - 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin -1α human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

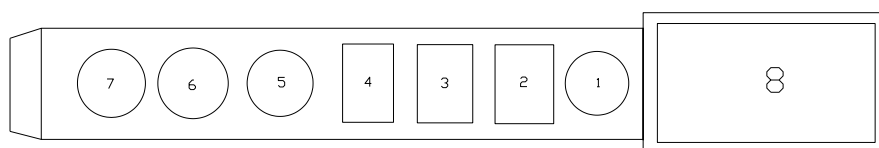
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 1α human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

52. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN - 1 β HUMAN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ Interleukin - 1 β human trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán nhiễm trùng, viêm trong các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô

- Tủ âm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: Thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 - 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: Nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5'.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin -1β human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:
- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

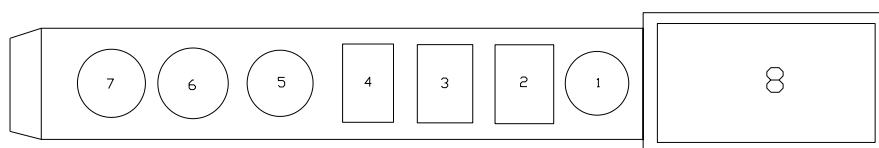
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4 Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 1β human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

53. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN - 2 HUMAN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ Interleukin - 2 human trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán nhiễm trùng, viêm trong các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô

- Tủ âm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 - 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5'.
- Khởi động và chọn các chương trình phân mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 2 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

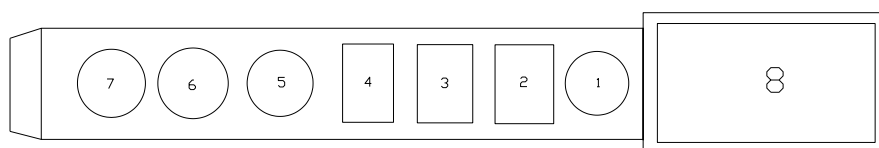
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 2 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

54. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN - 4 HUMAN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ Interleukin - 4 human trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán nhiễm trùng, viêm trong các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô

- Tủ âm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: Thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 - 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: Nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 4 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

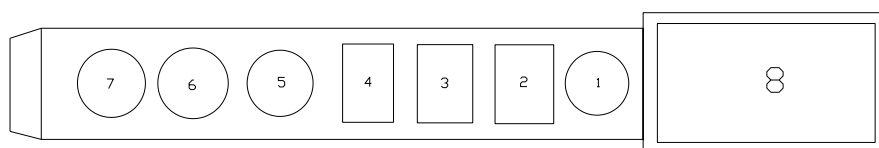
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 4 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:
- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

55. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN - 6 HUMAN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ Interleukin - 6 human trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán nhiễm trùng, viêm trong các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô

- Tủ âm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 - 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 6 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

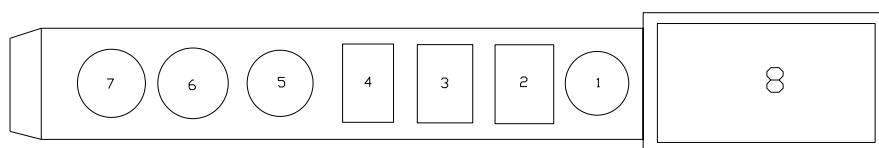
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 6 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

56. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN - 8 HUMAN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ Interleukin - 8 human trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán nhiễm trùng, viêm trong các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô

- Tủ âm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: Tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: Có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 - 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30'
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5'.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 8 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:
- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

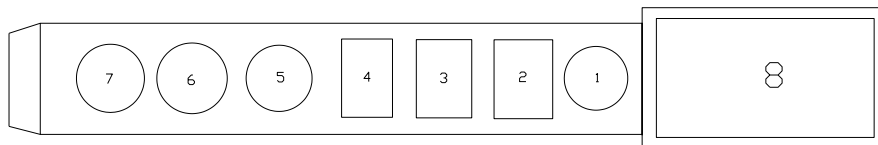
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 8 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

57. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN - 10 HUMAN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ Interleukin - 10 human trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán nhiễm trùng, viêm trong các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô

- Tủ âm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 - 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 10 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

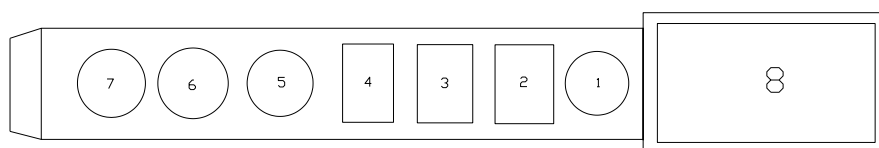
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 10 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:
- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

+ Huyết thanh vàng

+ Huyết thanh tan huyết

+ Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.

- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

+ Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

+ Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.

- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

58. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN - 12P70 HUMAN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Định lượng nồng độ Interleukin - 12p70 human trong huyết thanh bệnh nhân như một tiêu chuẩn hỗ trợ trong chẩn đoán nhiễm trùng, viêm trong các bệnh tự miễn.

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Nguyên lý của kỹ thuật ELISA là dựa vào sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên - kháng thể. Kháng nguyên tinh khiết được gắn vào giếng, sau đó cho thêm huyết thanh có chứa kháng thể cần phát hiện. Bổ sung kháng thể có gắn enzyme, thêm vào cơ chất tạo tín hiệu màu. Tín hiệu màu có thể xác định được bằng phương pháp đo mật độ quang. Mức độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể có mặt trong huyết thanh bệnh nhân.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y
- Điều dưỡng

2.2. Vật tư

2.2.1 Dụng cụ

- Pipet
- Hộp đựng đầu côn
- Chai thủy tinh nút mài
- Ống đong thủy tinh
- khay đựng dụng cụ
- Giá cầm ống nghiệm
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2 Hóa chất, thuốc thử

- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Dung dịch rửa máy xét nghiệm
- Hóa chất nội kiểm
- Hóa chất ngoại kiểm
- Sinh phẩm tiêu hao cho xét nghiệm

- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chuẩn
- Sinh phẩm tiêu hao cho chạy chứng và kiểm tra chất lượng
- Hóa chất sinh phẩm chẩn đoán
- Nước cất 2 lần

2.2.3 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính
- Máy đọc mật độ quang máy đọc ELISA
- Vật tư thay thế hệ thống thủy
- Vật tư thay thế hệ thống quang
- Vật tư thay thế hệ thống điện

2.3. Trang thiết bị

- Hệ thống máy xét nghiệm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô

- Tủ âm 37°C
- Máy ly tâm
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn...

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 - 3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Máy bán tự động

4.1.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.1.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- Để tránh hiện tượng bay hơi hóa chất sinh phẩm chẩn đoán, hóa chất sinh phẩm cho chạy chứng, kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2h.
- Hộp chứa 96 giếng đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Các loại chứng bao gồm các nồng độ.
- Chứng dương tính và chứng âm tính.
- Dung dịch pha loãng bệnh phẩm.
- Dung dịch rửa.
- Dung dịch chất cộng hợp
- Dung dịch cơ chất
- Dung dịch dừng phản ứng
- Chuẩn bị pha loãng bệnh phẩm: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch pha loãng bệnh phẩm dạng cô đặc (pha loãng 5 lần) với nước cất hai lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.
- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng phân chứa trong mỗi lọ của dung dịch rửa dạng cô đặc (pha loãng gấp 50 lần) với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

- Pha loãng mẫu bệnh phẩm (huyết thanh bệnh nhân) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với dung dịch pha loãng bệnh phẩm trước khi làm xét nghiệm.

4.1.3. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị đủ số giếng cần thiết với những mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng.
- Cho 100µl mẫu bệnh phẩm đã được pha loãng vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Rửa toàn bộ giếng để loại bỏ những kháng thể trong huyết thanh không gắn kết. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm vào 100µl dung dịch cộng hợp vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Loại bỏ những thành phần thừa trong những giếng. Rửa 3 lần với 300µl của dung dịch rửa.
- Thêm 100µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
- Ủ giếng trong máy ủ ở nhiệt độ 20°C - 25°C thời gian 30’
- Thêm 100µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng, ủ ở nhiệt độ phòng 5’.
- Khởi động và chọn các chương trình phần mềm của các máy theo các loại xét nghiệm được yêu cầu.
- Đo mật độ quang học của mẫu.

4.1.4 Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:
- Dựa theo tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 12p70 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:
- ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.2. Máy tự động

4.2.1. Chuẩn bị bệnh phẩm

a. Lấy bệnh phẩm

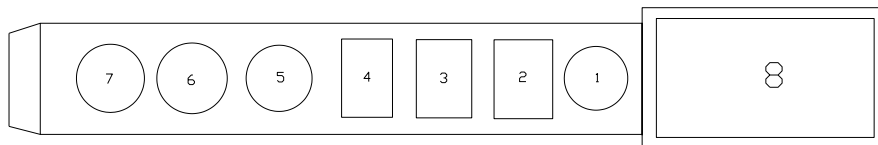
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu, không bị đục.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối đa 2 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

b. Nhận bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm được lấy đúng tiêu chuẩn, không có chất chống đông và đủ thể tích theo yêu cầu xét nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Các thông tin trên mẫu bệnh phẩm phù hợp với phiếu chỉ định xét nghiệm.

4.2.2. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất

- 1 hộp hóa chất chứa 6 túi, mỗi túi gồm 6 thanh test đã được gắn kháng nguyên và được bảo quản trong một túi thiếc với gói chất chống ẩm.
- Dung dịch rửa.
- Mẫu Calibration, mẫu Control
- Cấu tạo thanh test:



Vị trí số 1: Giếng trông khu vực nhỏ huyết thanh

Vị trí số 2: Chất cộng hợp

Vị trí số 3: Dung dịch pha loãng

Vị trí số 4: Dung dịch cơ chất

Vị trí số 5: Giếng không tráng kháng nguyên

Vị trí số 6: Giếng tráng kháng nguyên

Vị trí số 7: Giếng trông

Vị trí số 8: Khu vực mã code

- Chuẩn bị dung dịch rửa: Pha loãng dung dịch rửa dạng cô đặc theo tỉ lệ khuyến cáo của hãng với nước cất 2 lần. Bảo quản tủ lạnh 2-8°C trong 30 ngày.

4.2.3. Tiến hành kỹ thuật

- Kiểm tra đối chiếu trước khi tiến hành xét nghiệm
- Chuẩn bị đủ loại thanh test tương ứng với các chỉ định xét nghiệm cần thiết với mẫu chứng, mẫu bệnh phẩm.
- Cho 50µl mẫu chứng và mẫu bệnh phẩm vào test
- Cho thanh test vào đúng vị trí quy định trên máy.
- Chit mã code cho mỗi thanh test
- Các bước tiến hành dựa theo quy trình khuyến cáo chạy máy do hãng máy cung cấp.
- Kết quả xét nghiệm được tự động chuyển sang máy tính.
- Rửa máy hàng ngày sau khi kết thúc quá trình xét nghiệm
- Rửa máy tuần vào 1 ngày cố định trong tuần.

4.2.4. Nhận định kết quả

- Chạy mẫu QC:
 - + Chạy mẫu QC trước hoặc song song cùng với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân
 - + Quy trình chạy mẫu QC tương tự như quy trình chạy mẫu xét nghiệm.
 - + Xem xét kết quả QC:
 - Nếu kết quả QC không đạt:
 - ✓ Sử dụng mẫu QC khác để kiểm tra lần 2.
 - ✓ Nếu kiểm tra lần 2 không đạt yêu cầu thì sử dụng thuốc thử khác của cùng lô sinh phẩm đang sử dụng để kiểm tra lần 3.
 - ✓ Nếu kết quả kiểm tra cả 3 lần đều không đạt yêu cầu thì tạm dừng việc xét nghiệm bằng lô sinh phẩm đang sử dụng, báo cáo lãnh đạo Phòng xét nghiệm để tìm hiểu nguyên nhân và tìm biện pháp giải quyết. Chỉ tiếp tục thực hiện xét nghiệm sau khi đã hoàn thành việc khắc phục.
 - Nếu kết quả QC đạt: Tiến hành đọc kết quả xét nghiệm và nhận định kết quả:

Dựa vào tiêu chuẩn đánh giá xét nghiệm định lượng Interleukin - 12p70 human của nhà sản xuất để nhận định kết quả:

 - ✓ Âm tính, Dương tính, Nghi ngờ.
 - ✓ Đối với mẫu nghi ngờ khuyến cáo kiểm tra lại sau 1 tuần.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:

- + Huyết thanh vàng
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Nhầm lẫn trong nhỏ mẫu vào giếng phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Giải pháp:

- + Thực hiện lại quy trình, đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên
- + Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Castro C, Gourley M. Diagnostic Testing and Interpretation of Tests for Autoimmunity. J Allergy Clin Immunol. 2010, 125(2 Suppl 2):S238-47.

2. Kumar Y, Bhatia A, Walker Minz R. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol.* 2009 Jan 2;4:1.
3. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(12):715-726.
4. Ling M, Murali M. Antinuclear Antibody Tests. *Clin Lab Med.* 2019 Dec;39(4):513-524.
5. Hovhannes Hayrapetyan, Thao Tran, Eglis Tellez-Corrales, Charitha Madiraju. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. *Methods Mol Biol.* 2023;2612:1-17.

59. TEST LẤY DA (PRICK TEST) ĐẶC HIỆU VỚI CÁC DỊ NGUYÊN HÔ HẤP

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Test lấy da là xét nghiệm sinh học phát hiện sự hiện diện của IgE đặc hiệu với dị nguyên trên tế bào mast của bệnh nhân. Phản ứng dương tính ngụ ý rằng tế bào Mast bên trong các cơ quan đích khác (ví dụ: mắt, mũi, phổi và đường tiêu hóa) cũng sẽ phản ứng khi tiếp xúc với dị nguyên đó.

1.1.2. Nguyên lý

Khi dị nguyên được đưa vào da của bệnh nhân trong quá trình test lấy da, nó sẽ tiếp xúc với các tế bào mast ở da. Sự liên kết của dị nguyên xảy ra nếu tế bào mast của bệnh nhân được phủ IgE đặc hiệu với dị nguyên cụ thể đó. Nếu cả IgE và dị nguyên đều có mặt với số lượng đủ thì các phân tử IgE lân cận chống lại dị nguyên có thể tạo được liên kết ngang trên bề mặt tế bào và bắt đầu truyền tín hiệu nội bào. Những hiện tượng này dẫn đến hoạt hóa tế bào Mast, giải phóng các chất chứa trong hạt nội bào (thoái hóa) và tạo ra các chất trung gian gây viêm mới. Sự thoái hóa giải phóng các chất trung gian và enzyme hoạt mạch được tạo thành trước, chẳng hạn như Histamine, Tryptase, Chymase và Carboxypeptidase. Histamine là chất trung gian chính gây ra phản ứng sẩn phù và ngứa đỏ. Kết quả lâm sàng của các hiện tượng này là test lấy da dương tính.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Xác định các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn Type 1 với các dị nguyên hô hấp.

2. CHỈ ĐỊNH

Khi nghi ngờ có các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn nhanh (Type1) với các dị nguyên đường hô hấp: mạt bụi nhà, bụi nhà, lông chó, lông mèo, gián, nấm....

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tổn thương da lan tỏa cấp tính.
- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng.
- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ.
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm virus.
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định.
- Có tiền sử động kinh, tim mạch.
- Bệnh nhân có tổn thương da (ba đỏ, bóng nước, sẩn ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định.
- Bệnh nhân đang dùng 1 số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dừng trước làm test da
Kháng histamine	
Kháng H1 thế hệ 1 Hydroxyzine	> 2 ngày
Kháng H1 thế hệ 2 Certizine hydrochloride, Loratadin, Ketotifen H2 blocker	> 7 ngày > 5 ngày Không
Glucocorticoid	
Tại chỗ	> 1 tuần
Đường mũi	0
Đường hít	0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày < 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone >50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày > 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày < 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone >10 mg/ ngày tương đương Prednisolone Ức chế calcineurin	0 > 3 tuần > 1 tuần
Một số thuốc khác Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm Doxepin hydrochloride Desipramine	7 ngày 3 ngày

4. THẬN TRỌNG

Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn beta, ức chế enzyme chuyển dạng Angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị Adrenalin nếu có phản vệ xảy ra)

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính (Negative control - Natriclorua 0.9%): 1 giọt

- Chứng Dương tính (Positive Control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine Base hoặc Codeine Phosphate 9%): 1 giọt
- Dị nguyên chẩn đoán.

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 μ l
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Đồng hồ bấm giờ
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Kim thử test
- Đầu côn vàng
- Giấy thấm
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. . Trang thiết bị

- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm

- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test da. Nếu có dùng thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dùng trước làm test da
Kháng histamine Kháng H1 thế hệ 1 Hydroxyzine	> 2 ngày
Kháng H1 thế hệ 2 Certizine hydrochloride, Loratadin, Ketotifen H2 blocker	> 7 ngày > 5 ngày Không
Glucocorticoid Tại chỗ Đường mũi Đường hít	> 1 tuần 0 0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày < 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone ➤ 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày > 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày < 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone > 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone Ức chế Calcineurin	0 > 3 tuần > 1 tuần
Một số thuốc khác Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm Doxepin hydrochloride Desipramine	7 ngày 3 ngày

- Phát hiện những trường hợp có chống chỉ định với test da: tổn thương da (da đỏ, bong nước, sản ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định
- Người bệnh đồng ý tham gia làm test lấy da

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh*: Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân*: Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

Dựa theo phương pháp thực hiện test lấy da của Tổ chức Dị ứng Thế giới năm 2020.

- Vị trí test: mặt trong cẳng tay, có thể thực hiện ở các vị trí khác nếu mặt trong cẳng tay không thể làm được. Vị trí làm test cách cổ tay 5cm và khuỷu tay 3cm tính từ hô khuỷu. Không làm test da ở các vị trí viêm da đang hoạt động, tổn thương da nghiêm trọng và hình xăm.
- Đánh dấu vị trí test của từng dị nguyên.
- Làm sạch, sát trùng vị trí test bằng cồn 70° và để khô.
- Nhỏ dị nguyên lên vị trí đã đánh dấu, các vị trí cách nhau ít nhất 2cm.
- Dùng kim lấy chuẩn lấy nhẹ lên bề mặt da với 1 góc (45 - 60° với kim lancet, 90° stallerpoint) để đưa dị nguyên xuống ngay bên dưới lớp biểu bì. Mỗi kim lấy chỉ được sử dụng 1 lần cho 1 dị nguyên duy nhất.
- Dùng giấy thấm khô phần dị nguyên còn thừa

6.2. Nhận định kết quả

- Kết quả test da với Histamine đọc sau 8 - 10 phút.
- Kết quả test da với các dị nguyên khác đọc sau 15 - 20 phút.
- Sử dụng thước đo để ghi lại kích thước của nốt sần, đơn vị: Milimet. Kết quả của được tính bằng đường kính trung bình của nốt sần, $D + d/2$ (với D là đường kính lớn nhất của nốt sần, d là đường kính lớn nhất trục giao với D). Đường kính tối thiểu của nốt sần có ý nghĩa phải $\geq 3\text{mm}$ so với kết quả của chứng dương tính (Histamine Dihydrochloride 10mg/ml) hoặc kích thước nốt sần phải từ 75% trở lên so với kết quả của chứng dương là Codein Phosphat 25mg/ml

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

Thủ thuật an toàn, chưa có ghi nhận tai biến sau khi thử test.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gayatri Patel, Carol Saltoun. Skin testing in allergy. *Allergy Asthma Proc.* 2019 Nov 1;40(6):366-368.
2. F Frati , C Incorvaia , C Cavaliere, G Di Cara, F Marcucci, S Esposito, S Masieri. The skin prick test. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2018 Jan-Feb;32(1 Suppl. 1):19-24.

3. Leelavathi Muthupalaniappen, Adawiyah Jamil. Prick, patch or blood test? A simple guide to allergy testing. *Malays Fam Physician*. 2021 May 31;16(2):19-26.
4. Ansotegui et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy. A World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organization Journal* (2020) 13:100080.
5. Rebecca R Saff. Skin testing as a biomarker in drug allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2023 Feb;130(2):161-168.

60. TEST LẤY DA (PRICK TEST) ĐẶC HIỆU VỚI CÁC DỊ NGUYÊN THỨC ĂN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Test lấy da là xét nghiệm sinh học phát hiện sự hiện diện của IgE đặc hiệu với dị nguyên trên tế bào Mast của bệnh nhân. Phản ứng dương tính ngụ ý rằng tế bào Mast bên trong các cơ quan đích khác (ví dụ: mắt, mũi, phổi và đường tiêu hóa) cũng sẽ phản ứng khi tiếp xúc với dị nguyên đó.

1.1.2. Nguyên lý

Khi dị nguyên được đưa vào da của bệnh nhân trong quá trình test lấy da, nó sẽ tiếp xúc với các tế bào Mast ở da. Sự liên kết của dị nguyên xảy ra nếu tế bào Mast của bệnh nhân được phủ IgE đặc hiệu với dị nguyên cụ thể đó. Nếu cả IgE và dị nguyên đều có mặt với số lượng đủ thì các phân tử IgE lân cận chống lại dị nguyên có thể tạo được liên kết ngang trên bề mặt tế bào và bắt đầu truyền tín hiệu nội bào. Những hiện tượng này dẫn đến hoạt hóa tế bào Mast, giải phóng các chất chứa trong hạt nội bào (thoái hóa) và tạo ra các chất trung gian gây viêm mới. Sự thoái hóa giải phóng các chất trung gian và enzyme hoạt mạch được tạo thành trước, chẳng hạn như Histamine, Tryptase, Chymase và Carboxypeptidase. Histamine là chất trung gian chính gây ra phản ứng sẩn phù và ngứa đỏ. Kết quả lâm sàng của các hiện tượng này là test lấy da dương tính.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Xác định các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn Type 1 với các dị nguyên thức ăn.

2. CHỈ ĐỊNH

Khi nghi ngờ có các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn nhanh (Type1), với các dị nguyên thức ăn: tôm, cua, cá hồi, thịt bò; thịt lợn...

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tồn thương da lan tỏa cấp tính.
- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng.
- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ.
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm Virus.
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định.
- Có tiền sử động kinh, tim mạch.
- Bệnh nhân có tổn thương da (ba đỏ, bóng nước, sẩn ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định.
- Bệnh nhân đang dùng 1 số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dừng trước làm test da
Kháng histamine	
Kháng H1 thế hệ 1	> 2 ngày
Hydroxyzine	
Kháng H1 thế hệ 2	> 7 ngày
Certizine hydrochloride, Loratadin,	> 5 ngày
Ketotifen	Không
H2 blocker	
Glucocorticoid	
Tại chỗ	> 1 tuần
Đường mũi	0
Đường hít	0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày	
< 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày
> 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày	
< 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	0
> 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 tuần
Ức chế Calcineurin	> 1 tuần
Một số thuốc khác	
Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm	
Doxepin hydrochloride	7 ngày
Desipramine	3 ngày

4. THẬN TRỌNG

Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn beta, ức chế enzyme chuyển dạng Angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị Adrenalin nếu có phản vệ xảy ra).

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính: 1 giọt

- Chứng Dương tính: 1 giọt
- Dự nguyên chẩn đoán.

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 μ l
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Đồng hồ bấm giờ
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Kim thử test
- Đầu côn vàng
- Giấy thấm
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm
- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test da. Nếu có dùng thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dùng trước làm test da
Kháng histamine	
Kháng H1 thế hệ 1 Hydroxyzine	> 2 ngày
Kháng H1 thế hệ 2 Certizine hydrochloride, Loratadin, Ketotifen H2 blocker	> 7 ngày > 5 ngày Không
Glucocorticoid	
Tại chỗ	> 1 tuần
Đường mũi	0
Đường hít	0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày	
< 50 mg/ ngày tương đương prednisolone	> 3 ngày
> 50 mg/ ngày tương đương prednisolone	> 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày	
< 10 mg/ ngày tương đương prednisolone	0
> 10 mg/ ngày tương đương prednisolone	> 3 tuần
Ức chế calcineurin	> 1 tuần
Một số thuốc khác	
Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm	
Doxepin hydrochloride	7 ngày
Desipramine	3 ngày

- Phát hiện những trường hợp có chống chỉ định với test da: Tổn thương da (da đỏ, bong nước, sần ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định

- Người bệnh đồng ý tham gia làm test lấy da

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. Thực hiện bảng kiểm an toàn thử thuật

c. Tư thế bệnh nhân: Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

Dựa theo phương pháp thực hiện test lấy da của Tổ chức Dị ứng Thế giới năm 2020.

- Vị trí test: mặt trong cẳng tay, có thể thực hiện ở các vị trí khác nếu mặt trong cẳng tay không thể làm được. Vị trí làm test cách cổ tay 5cm và khuỷu tay 3cm tính từ hô khuỷu. Không làm test da ở các vị trí viêm da đang hoạt động, tổn thương da nghiêm trọng và hình xăm.
- Đánh dấu vị trí test của từng dị nguyên.
- Làm sạch, sát trùng vị trí test bằng cồn 70° và để khô.
- Nhỏ dị nguyên lên vị trí đã đánh dấu, các vị trí cách nhau ít nhất 2cm.
- Dùng kim lấy chuẩn lấy nhẹ lên bề mặt da với 1 góc (45 - 60° với kim lancet, 90° stallerpoint) để đưa dị nguyên xuống ngay bên dưới lớp biểu bì. Mỗi kim lấy chỉ được sử dụng 1 lần cho 1 dị nguyên duy nhất.
- Dùng giấy thấm khô phần dị nguyên còn thừa

6.2. Nhận định kết quả

- Kết quả test da với histamine đọc sau 8 - 10 phút.
- Kết quả test da với các dị nguyên khác đọc sau 15 - 20 phút.
- Sử dụng thước đo để ghi lại kích thước của nốt sần, đơn vị: milimet. Kết quả của được tính bằng đường kính trung bình của nốt sần, $D + d/2$ (với D là đường kính lớn nhất của nốt sần, d là đường kính lớn nhất trục giao với D). Đường kính tối thiểu của nốt sần có ý nghĩa phải $\geq 3\text{mm}$ so với kết quả của chứng dương tính (histamine dihydrochloride 10mg/ml) hoặc kích thước nốt sần phải từ 75% trở lên so với kết quả của chứng dương là codein phosphat 25mg/ml

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

Thủ thuật an toàn, chưa có ghi nhận tai biến sau khi thử test.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gayatri Patel, Carol Saltoun. Skin testing in allergy. *Allergy Asthma Proc.* 2019 Nov 1;40(6):366-368.
2. F Frati , C Incorvaia , C Cavaliere, G Di Cara, F Marcucci, S Esposito, S Masieri. The skin prick test. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2018 Jan-Feb;32(1 Suppl. 1):19-24.
3. Leelavathi Muthupalaniappen, Adawiyah Jamil. Prick, patch or blood test? A simple guide to allergy testing. *Malays Fam Physician.* 2021 May 31;16(2):19-26.

4. Ansotegui et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy. A World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organization Journal* (2020) 13:100080.
5. Rebecca R Saff. Skin testing as a biomarker in drug allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2023 Feb;130(2):161-168.
6. Santos AF et al. EAACI guidelines on the diagnosis of IgE-mediated food allergy. *Allergy*. 2023 Dec;78(12):3057-3076.

61. TEST LẤY DA (PRICK TEST) ĐẶC HIỆU VỚI CÁC DỊ NGUYÊN SỮA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Test lấy da là xét nghiệm sinh học phát hiện sự hiện diện của IgE đặc hiệu với dị nguyên trên tế bào Mast của bệnh nhân. Phản ứng dương tính ngụ ý rằng tế bào Mast bên trong các cơ quan đích khác (ví dụ: mắt, mũi, phổi và đường tiêu hóa) cũng sẽ phản ứng khi tiếp xúc với dị nguyên đó.

1.1.2. Nguyên lý

Khi dị nguyên được đưa vào da của bệnh nhân trong quá trình test lấy da, nó sẽ tiếp xúc với các tế bào Mast ở da. Sự liên kết của dị nguyên xảy ra nếu tế bào Mast của bệnh nhân được phủ IgE đặc hiệu với dị nguyên cụ thể đó. Nếu cả IgE và dị nguyên đều có mặt với số lượng đủ thì các phân tử IgE lân cận chống lại dị nguyên có thể tạo được liên kết ngang trên bề mặt tế bào và bắt đầu truyền tín hiệu nội bào. Những hiện tượng này dẫn đến hoạt hóa tế bào Mast, giải phóng các chất chứa trong hạt nội bào (thoái hóa) và tạo ra các chất trung gian gây viêm mới. Sự thoái hóa giải phóng các chất trung gian và enzyme hoạt mạch được tạo thành trước, chẳng hạn như Histamine, Tryptase, Chymase và Carboxypeptidase. Histamine là chất trung gian chính gây ra phản ứng sẩn phù và ngứa đỏ. Kết quả lâm sàng của các hiện tượng này là test lấy da dương tính.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Xác định các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn Type 1 với các dị nguyên hô hấp.

2. CHỈ ĐỊNH

Khi nghi ngờ có các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn nhanh (Type1), với các dị nguyên sữa: Beta lactoglobulin, Alpha lactalbumin, Casein....

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tổn thương da lan tỏa cấp tính.
- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng.
- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ.
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm virus.
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định.
- Có tiền sử động kinh, tim mạch.
- Bệnh nhân có tổn thương da (da đỏ, bóng nước, sẩn ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định.
- Bệnh nhân đang dùng 1 số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dùng trước làm test da
Kháng histamine	
Kháng H1 thế hệ 1 Hydroxyzine	> 2 ngày
Kháng H1 thế hệ 2 Certizine hydrochloride, Loratadin, Ketotifen H2 blocker	> 7 ngày > 5 ngày Không
Glucocorticoid	
Tại chỗ	> 1 tuần
Đường mũi	0
Đường hít	0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày < 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone > 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày > 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày < 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone > 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone Ức chế calcineurin	0 > 3 tuần > 1 tuần
Một số thuốc khác Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm Doxepin hydrochloride Desipramine	7 ngày 3 ngày

4. THẬN TRỌNG

Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn beta, ức chế enzyme chuyển dạng Angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị Adrenalin nếu có phản vệ xảy ra).

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính (Negative control - Natriclorua 0.9%): 1 giọt

- Chứng Dương tính (Positive control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%): 1 giọt
- Dị nguyên chẩn đoán.

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 μ l
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Đồng hồ bấm giờ
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Kim thử test
- Đầu côn vàng
- Giấy thấm
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm

- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test da. Nếu có dùng thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dùng trước làm test da
Kháng histamine Kháng H1 thế hệ 1 Hydroxyzine	> 2 ngày
Kháng H1 thế hệ 2 Certizine hydrochloride, Loratadin, Ketotifen H2 Blocker	> 7 ngày > 5 ngày Không
Glucocorticoid Tại chỗ Đường mũi Đường hít	> 1 tuần 0 0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày < 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone > 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày > 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày < 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone > 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone Ức chế Calcineurin	0 > 3 tuần > 1 tuần
Một số thuốc khác Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm Doxepin hydrochloride Desipramine	7 ngày 3 ngày

- Phát hiện những trường hợp có chống chỉ định với test da: Tổn thương da (da đỏ, bong nước, sần ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định

- Người bệnh đồng ý tham gia làm test lấy da

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.
- b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*
- c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

Dựa theo phương pháp thực hiện test lấy da của Tổ chức Dị ứng thế giới năm 2020.

- Vị trí test: mặt trong cẳng tay, có thể thực hiện ở các vị trí khác nếu mặt trong cẳng tay không thể làm được. Vị trí làm test cách cổ tay 5cm và khuỷu tay 3cm tính từ hố khuỷu. Không làm test da ở các vị trí viêm da đang hoạt động, tổn thương da nghiêm trọng và hình xăm.
- Đánh dấu vị trí test của từng dị nguyên.
- Làm sạch, sát trùng vị trí test bằng cồn 70° và để khô.
- Nhỏ dị nguyên lên vị trí đã đánh dấu, các vị trí cách nhau ít nhất 2cm.
- Dùng kim lấy chuẩn lấy nhẹ lên bề mặt da với 1 góc (45 - 60° với kim lancet, 90° stallerpoint) để đưa dị nguyên xuống ngay bên dưới lớp biểu bì. Mỗi kim lấy chỉ được sử dụng 1 lần cho 1 dị nguyên duy nhất.
- Dùng giấy thấm khô phần dị nguyên còn thừa

6.2. Nhận định kết quả

- Kết quả test da với Histamine đọc sau 8 - 10 phút.
- Kết quả test da với các dị nguyên khác đọc sau 15 - 20 phút.
- Sử dụng thước đo để ghi lại kích thước của nốt sẩn, đơn vị: milimet. Kết quả của được tính bằng đường kính trung bình của nốt sẩn, $D + d/2$ (với D là đường kính lớn nhất của nốt sẩn, d là đường kính lớn nhất trục giao với D). Đường kính tối thiểu của nốt sẩn có ý nghĩa phải $\geq 3\text{mm}$ so với kết quả của chứng dương tính (histamine dihydrochloride 10mg/ml) hoặc kích thước nốt sẩn phải từ 75% trở lên so với kết quả của chứng dương là codein phosphat 25mg/ml.

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

Thủ thuật an toàn, chưa có ghi nhận tai biến sau thử test.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gayatri Patel, Carol Saltoun. Skin testing in allergy. Allergy Asthma Proc. 2019 Nov 1;40(6):366-368.

2. F Frati , C Incorvaia , C Cavaliere, G Di Cara, F Marcucci, S Esposito, S Masieri. The skin prick test. J Biol Regul Homeost Agents. 2018 Jan-Feb;32(1 Suppl. 1):19-24.
3. Leelavathi Muthupalaniappen, Adawiyah Jamil. Prick, patch or blood test? A simple guide to allergy testing. Malays Fam Physician. 2021 May 31;16(2):19-26.
4. Ansotegui et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy. A World Allergy Organization position paper. World Allergy Organization Journal (2020) 13:100080.
5. Rebecca R Saff. Skin testing as a biomarker in drug allergy. Ann Allergy Asthma Immunol. 2023 Feb;130(2):161-168.

62. TEST LẤY DA (PRICK TEST) ĐẶC HIỆU VỚI CÁC LOẠI THUỐC (ĐỐI VỚI 6 LOẠI THUỐC)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Test lấy da là xét nghiệm sinh học phát hiện sự hiện diện của IgE đặc hiệu với dị nguyên trên tế bào Mast của bệnh nhân. Phản ứng dương tính ngụ ý rằng tế bào Mast bên trong các cơ quan đích khác (ví dụ: mắt, mũi, phổi và đường tiêu hóa) cũng sẽ phản ứng khi tiếp xúc với dị nguyên đó.

1.1.2. Nguyên lý

Khi dị nguyên được đưa vào da của bệnh nhân trong quá trình test lấy da, nó sẽ tiếp xúc với các tế bào Mast ở da. Sự liên kết của dị nguyên xảy ra nếu tế bào Mast của bệnh nhân được phủ IgE đặc hiệu với dị nguyên cụ thể đó. Nếu cả IgE và dị nguyên đều có mặt với số lượng đủ thì các phân tử IgE lân cận chống lại dị nguyên có thể tạo được liên kết ngang trên bề mặt tế bào và bắt đầu truyền tín hiệu nội bào. Những hiện tượng này dẫn đến hoạt hóa tế bào Mast, giải phóng các chất chứa trong hạt nội bào (thoái hóa) và tạo ra các chất trung gian gây viêm mới. Sự thoái hóa giải phóng các chất trung gian và enzyme hoạt mạch được tạo thành trước, chẳng hạn như Histamine, Tryptase, Chymase và Carboxypeptidase. Histamine là chất trung gian chính gây ra phản ứng sưng phù và ngứa đỏ. Kết quả lâm sàng của các hiện tượng này là test lấy da dương tính.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Xác định các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn Type 1 với các thuốc.

2. CHỈ ĐỊNH

Các trường hợp nghi ngờ phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn nhanh (Type1), với các thuốc:

- Kháng sinh (β Lactamine, Quinolone, Macrolide, Sulfamide....)
- Heparine, Protamine, Insuline
- Thuốc dẫn cơ.
- Thuốc gây mê, gây tê.
- Corticoide.
- Thuốc cản quang có Iode.
- Thuốc ức chế miễn dịch.
- Thuốc chống ung thư.
- Một số hoá chất (Chlorhexidine..

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tồn thương da lan tỏa cấp tính.

- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng.
- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ.
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm virus.
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định.
- Có tiền sử động kinh, tim mạch.
- Bệnh nhân có tổn thương da (ba đỏ, bỏng nước, sẩn ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định.
- Bệnh nhân đang dùng 1 số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dừng trước làm test da
Kháng histamine	
Kháng H1 thế hệ 1 Hydroxyzine	> 2 ngày
Kháng H1 thế hệ 2 Certizine hydrochloride, Loratadin, Ketotifen H2 blocker	> 7 ngày > 5 ngày Không
Glucocorticoid	
Tại chỗ	> 1 tuần
Đường mũi	0
Đường hít	0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày	
< 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày
> 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày	
< 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	0
> 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 tuần
Ức chế Calcineurin	> 1 tuần
Một số thuốc khác	
Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm	
Doxepin hydrochloride	7 ngày
Desipramine	3 ngày

4. THẬN TRỌNG

- Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn beta, ức chế enzyme chuyển dạng Angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị Adrenalin nếu có phản vệ xảy ra)

- Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính (Negative Control - Natriclorua 0.9%): 1 giọt
- Chứng Dương tính (Positive Control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%): 1 giọt
- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống
- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 µl
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cối nghiền thuốc (thuốc viên)
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Kim luồn Catheter
- Dây truyền
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối

- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm, các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau quá trình làm test lây da.
- Ký cam kết đồng ý làm thủ thuật và đo chỉ số sinh tồn (mạch, huyết áp, SpO2) trước khi làm test lây da.
- Khai thác tiền sử dị ứng và các bệnh đồng mắc.
- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng thuốc có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test da.

- Người bệnh đồng ý tham gia làm test lấy da
- Người bệnh tự túc thuốc theo chỉ định xét nghiệm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: Đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

Dựa theo phương pháp thực hiện test lấy da của Tổ chức Dị ứng thế giới năm 2020.

- Vị trí test: mặt trong cẳng tay, có thể thực hiện ở các vị trí khác nếu mặt trong cẳng tay không thể làm được. Vị trí làm test cách cổ tay 5cm và khuỷu tay 3cm tính từ hồ khuỷu. Không làm test da ở các vị trí viêm da đang hoạt động, tổn thương da nghiêm trọng và hình xăm.
- Đánh dấu vị trí test của từng dị nguyên.
- Làm sạch, sát trùng vị trí test bằng cồn 70° và để khô.
- Nhỏ dị nguyên lên vị trí đã đánh dấu, các vị trí cách nhau ít nhất 2cm.
- Dùng kim lấy chuẩn lấy nhẹ lên bề mặt da với 1 góc (45 - 60° với kim lancet, 90° stallerpoint) để đưa dị nguyên xuống ngay bên dưới lớp biểu bì. Mỗi kim lấy chỉ được sử dụng 1 lần cho 1 dị nguyên duy nhất.
- Dùng giấy thấm khô phần dị nguyên còn thừa

6.2. Nhận định kết quả

- Kết quả test da với histamine đọc sau 8 - 10 phút.
- Kết quả test da với các dị nguyên khác đọc sau 15 - 20 phút.

Sử dụng thước đo để ghi lại kích thước của nốt sẩn, đơn vị: milimet. Kết quả của được tính bằng đường kính trung bình của nốt sẩn, $D + d/2$ (với D là đường kính lớn nhất của nốt sẩn, d là đường kính lớn nhất trục giao với D). Đường kính tối thiểu của nốt sẩn có ý nghĩa phải $\geq 3\text{mm}$ so với kết quả của chứng dương tính (histamine dihydrochloride 10mg/ml) hoặc kích thước nốt sẩn phải từ 75% trở lên so với kết quả của chứng dương là codein phosphat 25mg/ml

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mày đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tư 51/2017/ TT- BYT hướng dẫn phòng chẩn đoán và xử trí phản vệ
2. Lucie Heinzerling, Adriano Mari, Karl-Christian Bergmann, Megon Bresciani, Guido Burbach, Ulf Darsow, Stephen Durham, Wytske Fokkens, Mark Gjomarkaj, Tari Haahtela, Ana Todo Bom, Stefan Wöhrle, Howard Maibach, and Richard Lockey. The skin prick test - European standards.
3. Kränke B, Aberer W. Skin testing for IgE-Mediated Drug Allergy. Immunology and Allergy Clinics of North America, Volume 29, Issue 3, August 2009, Pages 503-516.
4. Wolfson AR, Banerji A. Skin testing and drug challenge in the evaluation of drug hypersensitivity reactions. Allergy Asthma Proc. 2021 Jan 1;42(1):16-21.
5. Ansotegui et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. World Allergy Organization Journal (2020) 13:100080.

63. TEST LẤY DA (PRICK TEST) ĐẶC HIỆU VỚI VẮC XIN, HUYẾT THANH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Test lấy da là xét nghiệm sinh học phát hiện sự hiện diện của IgE đặc hiệu với dị nguyên trên tế bào Mast của bệnh nhân. Phản ứng dương tính ngụ ý rằng tế bào Mast bên trong các cơ quan đích khác (ví dụ: mắt, mũi, phổi và đường tiêu hóa) cũng sẽ phản ứng khi tiếp xúc với dị nguyên đó.

1.1.2. Nguyên lý

Khi dị nguyên được đưa vào da của bệnh nhân trong quá trình test lấy da, nó sẽ tiếp xúc với các tế bào Mast ở da. Sự liên kết của dị nguyên xảy ra nếu tế bào Mast của bệnh nhân được phủ IgE đặc hiệu với dị nguyên cụ thể đó. Nếu cả IgE và dị nguyên đều có mặt với số lượng đủ thì các phân tử IgE lân cận chống lại dị nguyên có thể tạo được liên kết ngang trên bề mặt tế bào và bắt đầu truyền tín hiệu nội bào. Những hiện tượng này dẫn đến hoạt hóa tế bào Mast, giải phóng các chất chứa trong hạt nội bào (thoái hóa) và tạo ra các chất trung gian gây viêm mới. Sự thoái hóa giải phóng các chất trung gian và enzyme hoạt mạch được tạo thành trước, chẳng hạn như Histamine, Tryptase, Chymase và Carboxypeptidase. Histamine là chất trung gian chính gây ra phản ứng sẩn phù và ngứa đỏ. Kết quả lâm sàng của các hiện tượng này là test lấy da dương tính.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Xác định các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn type 1 với Vắc xin, huyết thanh.

2. CHỈ ĐỊNH

Khi nghi ngờ có các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn nhanh (Type1), với các loại vắc xin, huyết thanh

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tổn thương da lan tỏa cấp tính.
- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng.
- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ.
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm virus.
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định.
- Có tiền sử động kinh, tim mạch.
- Bệnh nhân có tổn thương da (da đỏ, bóng nước, sẩn ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định.
- Bệnh nhân đang dùng 1 số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dừng trước làm test da
Kháng histamine	
Kháng H1 thế hệ 1	> 2 ngày
Hydroxyzine	
Kháng H1 thế hệ 2	> 7 ngày
Certizine hydrochloride, Loratadin,	> 5 ngày
Ketotifen	Không
H2 blocker	
Glucocorticoid	
Tại chỗ	> 1 tuần
Đường mũi	0
Đường hít	0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày	
< 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày
> 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày	
< 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	0
> 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 tuần
Ức chế calcineurin	> 1 tuần
Một số thuốc khác	
Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm	
Doxepin hydrochloride	7 ngày
Desipramine	3 ngày

4. THẬN TRỌNG

- Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn beta, ức chế enzyme chuyển dạng Angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị Adrenalin nếu có phản vệ xảy ra)

- Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính (Negative control - Natriclorua 0.9%): 1 giọt
- Chứng Dương tính (Positive Control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%): 1 giọt
- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống
- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 μ l
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Kim luồn Catheter
- Dây truyền
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm

- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm, các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau quá trình làm test lấy da.
- Ký cam kết đồng ý làm thủ thuật và đo chỉ số sinh tồn (mạch, huyết áp, SPO2) trước khi làm test lấy da.
- Khai thác tiền sử dị ứng và các bệnh đồng mắc.
- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng thuốc có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test da.
- Người bệnh đồng ý tham gia làm test lấy da
- Người bệnh tự túc thuốc theo chỉ định xét nghiệm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. Kiểm tra người bệnh: Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật

c. *Tư thế bệnh nhân*: Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

Dựa theo phương pháp thực hiện test lẩy da của Tổ chức Dị ứng thế giới năm 2020.

- Vị trí test: mặt trong cẳng tay, có thể thực hiện ở các vị trí khác nếu mặt trong cẳng tay không thể làm được. Vị trí làm test cách cổ tay 5cm và khuỷu tay 3cm tính từ hố khuỷu. Không làm test da ở các vị trí viêm da đang hoạt động, tổn thương da nghiêm trọng và hình xăm.
- Đánh dấu vị trí test của từng dị nguyên.
- Làm sạch, sát trùng vị trí test bằng cồn 70° và để khô.
- Nhỏ dị nguyên lên vị trí đã đánh dấu, các vị trí cách nhau ít nhất 2cm.
- Dùng kim lẩy chuẩn lẩy nhẹ lên bề mặt da với 1 góc (45 - 60° với kim lancet, 90° stallerpoint) để đưa dị nguyên xuống ngay bên dưới lớp biểu bì. Mỗi kim lẩy chỉ được sử dụng 1 lần cho 1 dị nguyên duy nhất.
- Dùng giấy thấm khô phần dị nguyên còn thừa

6.2. Nhận định kết quả

- Kết quả test da với Histamine đọc sau 8 - 10 phút.
- Kết quả test da với các dị nguyên khác đọc sau 15 - 20 phút.

Sử dụng thước đo để ghi lại kích thước của nốt sẩn, đơn vị: milimet. Kết quả của được tính bằng đường kính trung bình của nốt sẩn, $D + d/2$ (với D là đường kính lớn nhất của nốt sẩn, d là đường kính lớn nhất trục giao với D). Đường kính tối thiểu của nốt sẩn có ý nghĩa phải $\geq 3\text{mm}$ so với kết quả của chứng dương tính (histamine dihydrochloride 10mg/ml) hoặc kích thước nốt sẩn phải từ 75% trở lên so với kết quả của chứng dương là Codein phosphat 25mg/ml

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mề đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biện chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lucie Heinzerling, Adriano Mari, Karl-Christian Bergmann, Megon Bresciani, Guido Burbach, Ulf Darsow, Stephen Durham, Wytske Fokkens, Mark Gjomarkaj, Tari Haahtela, Ana Todo Bom, Stefan Wöhrle, Howard Maibach, and Richard Lockett. The skin prick test - European standards.
2. Skin Testing in Allergen Standardization and Research, Immunology and Allergy Clinics of North America, Volume 21, Issue 2, 1 May 2001, Pages 329-354
3. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. Ansotegui et al. World Allergy Organization Journal (2020) 13:100080. <http://doi.org/10.1016/j.waojou.2019.100080>
4. Stone CA Jr, Rukasin CRF, Beachkofsky TM, Phillips EJ. Immune-mediated adverse reactions to vaccines. Br J Clin Pharmacol. 2019 Dec;85(12):2694-2706.
5. Niederberger V, Marth K, Eckl-Dorna J, Focke-Tejkl M, Weber M, Hemmer W, Berger U, Neubauer A, Stolz F, Henning R, Valenta R. Skin test evaluation of a novel peptide carrier-based vaccine, BM32, in grass pollen-allergic patients. J Allergy Clin Immunol. 2015 Oct;136(4):1101-3.e8.
6. Nilsson L, Csuth Á, Storsaeter J, Garvey LH, Jenmalm MC. Vaccine allergy: evidence to consider for COVID-19 vaccines. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2021 Aug 1;21(4):401-409.

64. TEST NỘI BÌ NHANH ĐẶC HIỆU VỚI THUỐC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Test nội bì là xét nghiệm sinh học phát hiện sự hiện diện của IgE đặc hiệu với dị nguyên trên tế bào Mast của bệnh nhân. Phản ứng dương tính ngụ ý rằng tế bào Mast bên trong các cơ quan đích khác (ví dụ: mắt, mũi, phổi và đường tiêu hóa) cũng sẽ phản ứng khi tiếp xúc với dị nguyên đó.

1.2.2. Nguyên lý

Khi dị nguyên được đưa vào da của bệnh nhân trong quá trình test nội bì, nó sẽ tiếp xúc với các tế bào Mast ở da. Sự liên kết của dị nguyên xảy ra nếu tế bào Mast của bệnh nhân được phủ IgE đặc hiệu với dị nguyên cụ thể đó. Nếu cả IgE và dị nguyên đều có mặt với số lượng đủ thì các phân tử IgE lân cận chống lại dị nguyên có thể tạo được liên kết ngang trên bề mặt tế bào và bắt đầu truyền tín hiệu nội bào. Những hiện tượng này dẫn đến hoạt hóa tế bào mast, giải phóng các chất chứa trong hạt nội bào (thoái hóa) và tạo ra các chất trung gian gây viêm mới. Sự thoái hóa giải phóng các chất trung gian và enzyme hoạt mạch được tạo thành trước, chẳng hạn như Histamine, Tryptase, Chymase và Carboxypeptidase. Histamine là chất trung gian chính gây ra phản ứng sẩn phù và ngứa đỏ. Kết quả lâm sàng của các hiện tượng này là test nội bì dương tính.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Xác định các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn Type 1 với các thuốc.

2. CHỈ ĐỊNH

Khi nghi ngờ có các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn nhanh (Type1) nhưng test lấy da âm tính, với các thuốc:

- Kháng sinh (β Lactamine, Quinolone, Macrolide, Sulfamide....)
- Heparine, Protamine, Insuline
- Thuốc dẫn cơ
- Thuốc gây mê, gây tê
- Corticoide
- Thuốc cản quang có Iode
- Thuốc ức chế miễn dịch
- Thuốc chống ung thư
- Một số hoá chất (chlorhexidine...)

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tổn thương da lan tỏa cấp tính
- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng

- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm virus
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định
- Có tiền sử động kinh, tim mạch
- Bệnh nhân có tổn thương da (da đỏ, bong nước, sẩn ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định
- Bệnh nhân đang dùng 1 số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dừng trước làm test da
Kháng histamine	
Kháng H1 thế hệ 1 Hydroxyzine	> 2 ngày
Kháng H1 thế hệ 2 Certizine hydrochloride, Loratadin, Ketotifen H2 blocker	> 7 ngày > 5 ngày Không
Glucocorticoid	
Tại chỗ	> 1 tuần
Đường mũi	0
Đường hít	0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày	
< 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày
> 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày	
< 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	0
> 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 tuần
Ức chế calcineurin	> 1 tuần
Một số thuốc khác	
Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm	
Doxepin hydrochloride	7 ngày
Desipramine	3 ngày

4. THẬN TRỌNG

- Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn beta, ức chế enzyme chuyển dạng Angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị Adrenalin nếu có phản vệ xảy ra)

- Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính (Negative Control - Natriclorua 0.9%): 1 giọt
- Chứng Dương tính (Positive Control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%): 1 giọt
- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống
- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 µl
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Kim luồn Catheter
- Dây truyền
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút

- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm, các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau quá trình làm test nội bì
- Ký cam kết đồng ý làm thủ thuật và đo chỉ số sinh tồn (mạch, huyết áp, SPO₂) trước khi làm test nội bì.
- Khai thác tiền sử dị ứng và các bệnh đồng mắc.
- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng thuốc có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test nội bì
- Người bệnh đồng ý tham gia làm test nội bì
- Người bệnh tự túc thuốc theo chỉ định xét nghiệm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh*: Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân*: Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Thuốc được pha loãng theo nồng độ chuẩn từ: 1/1000 - 1/100 - 1/10 so với nồng độ test lấy da tùy theo từng loại thuốc và dựa vào tiền sử mức độ dị ứng với thuốc nghi ngờ.
- Bệnh nhân phải được thực hiện test lấy da trước khi thực hiện test nội bì.
- Vị trí test: mặt trong cẳng tay. Vị trí làm test cách cổ tay 5cm và khuỷu tay 3cm tính từ hố khuỷu. Không làm test da ở các vị trí viêm da đang hoạt động, tổn thương da nghiêm trọng và hình xăm.
- Đánh dấu vị trí test của chứng âm và từng dị nguyên.
- Làm sạch, sát trùng vị trí test bằng cồn 70° và để khô.
- Dùng kim chuẩn tiêm 0.02 - 0.05ml thuốc đã pha loãng vào trong da để tạo nên sẩn có đường kính 3mm

6.2. Nhận định kết quả

- Kết quả test nội bì nhanh với thuốc đọc sau 15 - 20 phút.
- Sử dụng thước đo để ghi lại kích thước của nốt sẩn, đơn vị: milimet. Kết quả của được tính bằng đường kính trung bình của nốt sẩn, $(D + d)/2$ (với D là đường kính lớn nhất của nốt sẩn, d là đường kính lớn nhất trục giao với D). Kết quả test nội bì nhanh được coi là dương tính khi kích thước của sẩn tăng lên ít nhất 3mm và có quầng kèm theo.

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mào đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tư 51/2017/ TT- BYT hướng dẫn phòng chẩn đoán và xử trí phản vệ
2. Patel G, Saltoun C. Skin testing in allergy. Allergy Asthma Proc. 2019 Nov 1;40(6):366-368.
3. Brockow K, Romano A, Blanca M, Ring J, Pichler W, Demoly P. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. Allergy 2002; 57: 45-51
4. Kränke B, et al. Skin testing for IgE-Mediated Drug Allergy. Immunol Allergy Clin North Am. 2009 Aug;29(3):503-16.
5. Ansotegui et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. World Allergy Organization Journal (2020) 13:100080.
6. Wolfson AR, Banerji A. Skin testing and drug challenge in the evaluation of drug hypersensitivity reactions. Allergy Asthma Proc. 2021 Jan 1;42(1):16-21.

65. TEST NỘI BÌ NHANH ĐẶC HIỆU VỚI VẮC XIN, HUYẾT THANH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Test nội bì là xét nghiệm sinh học phát hiện sự hiện diện của IgE đặc hiệu với dị nguyên trên tế bào Mast của bệnh nhân. Phản ứng dương tính ngụ ý rằng tế bào Mast bên trong các cơ quan đích khác (ví dụ: mắt, mũi, phổi và đường tiêu hóa) cũng sẽ phản ứng khi tiếp xúc với dị nguyên đó.

1.2.2. Nguyên lý

Khi dị nguyên được đưa vào da của bệnh nhân trong quá trình test nội bì, nó sẽ tiếp xúc với các tế bào Mast ở da. Sự liên kết của dị nguyên xảy ra nếu tế bào Mast của bệnh nhân được phủ IgE đặc hiệu với dị nguyên cụ thể đó. Nếu cả IgE và dị nguyên đều có mặt với số lượng đủ thì các phân tử IgE lân cận chống lại dị nguyên có thể tạo được liên kết ngang trên bề mặt tế bào và bắt đầu truyền tín hiệu nội bào. Những hiện tượng này dẫn đến hoạt hóa tế bào Mast, giải phóng các chất chứa trong hạt nội bào (thoái hóa) và tạo ra các chất trung gian gây viêm mới. Sự thoái hóa giải phóng các chất trung gian và enzyme hoạt mạch được tạo thành trước, chẳng hạn như Histamine, Tryptase, Chymase và Carboxypeptidase. Histamine là chất trung gian chính gây ra phản ứng sẩn phù và ngứa đỏ. Kết quả lâm sàng của các hiện tượng này là test nội bì dương tính.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Xác định các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn Type 1 với Vắc xin, huyết thanh.

2. CHỈ ĐỊNH

Khi nghi ngờ có các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn nhanh (Type1), với các loại vắc xin, huyết thanh nhưng test lấy da âm tính

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tổn thương da lan tỏa cấp tính.
- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng.
- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ.
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm virus.
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định.
- Có tiền sử động kinh, tim mạch.
- Bệnh nhân có tổn thương da (da đỏ, bóng nước, sẩn ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định.
- Bệnh nhân đang dùng 1 số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dùng trước làm test da
Kháng histamine	
Kháng H1 thế hệ 1	> 2 ngày
Hydroxyzine	
Kháng H1 thế hệ 2	> 7 ngày
Certizine hydrochloride, Loratadin,	> 5 ngày
Ketotifen	Không
H2 blocker	
Glucocorticoid	
Tại chỗ	> 1 tuần
Đường mũi	0
Đường hít	0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày	
< 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày
> 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày	
< 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	0
> 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 tuần
Ức chế calcineurin	> 1 tuần
Một số thuốc khác	
Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm	
Doxepin hydrochloride	7 ngày
Desipramine	3 ngày

4. THẬN TRỌNG

- Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn beta, ức chế enzyme chuyển dạng Angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị Adrenalin nếu có phản vệ xảy ra)
- Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính (Negative control - Natriclorua 0.9%): 1 giọt
- Chứng Dương tính (Positive control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%): 1 giọt
- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống
- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 μ l
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Kim luồn Catheter
- Dây truyền
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ

- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm, các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau quá trình làm test nội bì
- Ký cam kết đồng ý làm thủ thuật và đo chỉ số sinh tồn (mạch, huyết áp, SPO₂) trước khi làm test nội bì.
- Khai thác tiền sử dị ứng và các bệnh đồng mắc.
- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng thuốc có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test nội bì
- Người bệnh đồng ý tham gia làm test nội bì
- Người bệnh tự túc Vacxin, Huyết thanh theo chỉ định xét nghiệm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.
- b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*
- c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Thuốc được pha loãng theo nồng độ chuẩn từ: 1/1000 - 1/100 - 1/10 so với nồng độ test lấy da tùy theo từng loại thuốc và dựa vào tiền sử mức độ dị ứng với thuốc nghi ngờ.
- Bệnh nhân phải được thực hiện test lấy da trước khi thực hiện test nội bì.
- Vị trí test: mặt trong cẳng tay. Vị trí làm test cách cổ tay 5cm và khuỷu tay 3cm tính từ hố khuỷu. Không làm test da ở các vị trí viêm da đang hoạt động, tổn thương da nghiêm trọng và hình xăm.
- Đánh dấu vị trí test của chứng âm và từng dị nguyên.
- Làm sạch, sát trùng vị trí test bằng cồn 70° và để khô.
- Dùng kim chuẩn tiêm 0.02 - 0.05ml thuốc đã pha loãng vào trong da để tạo nên sẵn có đường kính 3mm

6.2. Nhận định kết quả

- Kết quả test nội bì nhanh với thuốc đọc sau 15 - 20 phút.
- Sử dụng thước đo để ghi lại kích thước của nốt sẩn, đơn vị: milimet. Kết quả của được tính bằng đường kính trung bình của nốt sẩn, $(D + d)/2$ (với D là đường kính lớn nhất của nốt sẩn, d là đường kính lớn nhất trục giao với D). Kết quả test nội bì nhanh được coi là dương tính khi kích thước của sẩn tăng lên ít nhất 3mm và có quầng kèm theo.

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - Sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - Sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu Sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mào ngứa, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tư 51/2017/ TT- BYT hướng dẫn phòng chẩn đoán và xử trí phản vệ
2. Patel G, Saltoun C. Skin testing in allergy. *Allergy Asthma Proc.* 2019 Nov 1;40(6):366-368.
3. Ansotegui et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organization Journal* (2020) 13:100080.
4. Stone CA Jr, Rukasin CRF, Beachkofsky TM, Phillips EJ. Immune-mediated adverse reactions to vaccines. *Br J Clin Pharmacol.* 2019 Dec;85(12):2694-2706.
5. Niederberger V, Marth K, Eckl-Dorna J, Focke-Tejkl M, Weber M, Hemmer W, Berger U, Neubauer A, Stolz F, Henning R, Valenta R. Skin test evaluation of a novel peptide carrier-based vaccine, BM32, in grass pollen-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2015 Oct;136(4):1101-3.e8.
6. Nilsson L, Csuth Á, Storsaeter J, Garvey LH, Jenmalm MC. Vaccine allergy: evidence to consider for COVID-19 vaccines. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2021 Aug 1;21(4):401-409.

66. TEST NỘI BÌ CHẠM ĐẶC HIỆU VỚI THUỐC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Test nội bì đọc chậm xét nghiệm in vivo giúp cung cấp bằng chứng trong các phản ứng quá mẫn muộn và giúp xác định nguyên nhân gây nên tình trạng quá mẫn muộn

1.2.2. Nguyên lý

Dựa vào cơ chế phản ứng quá mẫn type IV (theo phân loại của Gell và Coombs). Khi đưa một lượng nhỏ dị nguyên vào tổ chức da người bệnh dị ứng, nếu là dị nguyên đặc hiệu sẽ gắn với Lympho bào mẫn cảm có sự tham gia của đại thực bào, làm giải phóng các hoá chất trung gian có tên gọi chung là Lymphokin, gây ra những rối loạn chức năng, làm tổn thương tổ chức (viêm, loét da).

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Chẩn đoán quá mẫn chậm do thuốc.

2. CHỈ ĐỊNH

Khi nghi ngờ có các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn muộn (Type 4), với các thuốc:

- Kháng sinh (β Lactamine, Quinolone, Macrolide, Sulfamide....)
- Heparine, Protamine, Insuline
- Thuốc dẫn cơ.
- Thuốc gây mê, gây tê.
- Corticoide.
- Thuốc cản quang có Iode.
- Thuốc ức chế miễn dịch.
- Thuốc chống ung thư.
- Một số hoá chất (Chlorhexidine..)

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tổn thương da lan tỏa cấp tính.
- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng.
- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ.
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm virus.
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định.
- Có tiền sử động kinh, tim mạch.
- Bệnh nhân có tổn thương da (da đỏ, bóng nước, sẩn ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định.

- Bệnh nhân đang dùng 1 số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dừng trước làm test da
Kháng histamine	
Kháng H1 thế hệ 1 Hydroxyzine	> 2 ngày
Kháng H1 thế hệ 2 Certizine hydrochloride, Loratadin, Ketotifen H2 Blocker	> 7 ngày > 5 ngày Không
Glucocorticoid	
Tại chỗ	> 1 tuần
Đường mũi	0
Đường hít	0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày	
< 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày
> 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày	
< 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	0
> 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 tuần
Ức chế Calcineurin	> 1 tuần
Một số thuốc khác	
Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm	
Doxepin hydrochloride	7 ngày
Desipramine	3 ngày

4. THẬN TRỌNG

- Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn beta, ức chế enzyme chuyển dạng angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị adrenalin nếu có phản vệ xảy ra)
- Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người

- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính (Negative Control - Natriclorua 0.9%): 1 giọt
- Chứng Dương tính (Positive Control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%): 1 giọt
- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống
- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 μ l
- Giá cắm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Kim luồn Catheter
- Dây truyền
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L

- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm, các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau quá trình làm test nội bì
- Ký cam kết đồng ý làm thủ thuật và đo chỉ số sinh tồn (mạch, huyết áp, SPO₂) trước khi làm test nội bì.
- Khai thác tiền sử dị ứng và các bệnh đồng mắc.
- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng thuốc có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test nội bì
- Người bệnh đồng ý tham gia làm test nội bì
- Người bệnh tự túc thuốc theo chỉ định xét nghiệm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật

c. Tư thế bệnh nhân: Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Thuốc được pha loãng theo nồng độ chuẩn từ: 1/1000 - 1/100 - 1/10 so với nồng độ test lấy da tùy theo từng loại thuốc và dựa vào tiền sử mức độ dị ứng với thuốc nghi ngờ.
- Bệnh nhân phải được thực hiện test lấy da trước khi thực hiện test nội bì.
- Vị trí test: mặt trong cẳng tay. Vị trí làm test cách cổ tay 5cm và khuỷu tay 3cm tính từ hố khuỷu. Không làm test da ở các vị trí viêm da đang hoạt động, tổn thương da nghiêm trọng và hình xăm.
- Đánh dấu vị trí test của chứng âm và từng dị nguyên.
- Làm sạch, sát trùng vị trí test bằng cồn 70° và để khô.
- Dùng kim chuẩn tiêm 0.02 - 0.05ml thuốc đã pha loãng vào trong da để tạo nên sẩn có đường kính 3mm.

6.2. Nhận định kết quả

- Kết quả đọc sau 30 phút - 60 phút - 6 giờ - 24 giờ - 72 giờ - 96 giờ... > 1 tuần tùy từng loại thuốc thử.
- Sử dụng thước đo để ghi lại kích thước của nốt sẩn, đơn vị: milimet. Kết quả của được tính bằng đường kính trung bình của nốt sẩn, $(D + d)/2$ (với D là đường kính lớn nhất của nốt sẩn, d là đường kính lớn nhất trục giao với D). Kết quả test nội bì được coi là dương tính khi kích thước của sẩn tăng lên ít nhất 3mm và có quầng kèm theo. Bất kỳ ban đỏ thâm nhiễm nào (nốt sẩn, hồng ban thâm nhiễm, ban đỏ đơn thuần, chàm có nốt sẩn và/hoặc mụn nước) đều được coi là kết quả dương tính

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mào đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biểu chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tư 51/2017/ TT- BYT hướng dẫn phòng chẩn đoán và xử trí phản vệ
2. Patel G, Saltoun C. Skin testing in allergy. Allergy Asthma Proc. 2019 Nov 1;40(6):366-368.
3. Brockow K, Romano A, Blanca M, Ring J, Pichler W, Demoly P. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. Allergy 2002; 57: 45-51
4. Kränke B, et al. Skin testing for IgE-Mediated Drug Allergy. Immunol Allergy Clin North Am. 2009 Aug;29(3):503-16.
5. Ansotegui et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. World Allergy Organization Journal (2020) 13:100080.
6. Wolfson AR, Banerji A. Skin testing and drug challenge in the evaluation of drug hypersensitivity reactions. Allergy Asthma Proc. 2021 Jan 1;42(1):16-21.

67. TEST NỘI BÌ CHẠM ĐẶC HIỆU VỚI VẮC XIN, HUYẾT THANH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Test nội bì đọc chậm xét nghiệm in vivo giúp cung cấp bằng chứng trong các phản ứng quá mẫn muộn và giúp xác định nguyên nhân gây nên tình trạng quá mẫn muộn

1.2.2. Nguyên lý

Dựa vào cơ chế phản ứng quá mẫn type IV (theo phân loại của Gell và Coombs). Khi đưa một lượng nhỏ dị nguyên vào tổ chức da người bệnh dị ứng, nếu là dị nguyên đặc hiệu sẽ gắn với Lympho bào mẫn cảm có sự tham gia của đại thực bào, làm giải phóng các hoá chất trung gian có tên gọi chung là Lymphokin, gây ra những rối loạn chức năng, làm tổn thương tổ chức (viêm, loét da).

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Chẩn đoán quá mẫn chậm do Vắc xin, huyết thanh.

2. CHỈ ĐỊNH

Khi nghi ngờ có các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn muộn (Type IV), với các loại vắc xin, huyết thanh.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tổn thương da lan tỏa cấp tính.
- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng.
- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ.
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm virus.
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định.
- Có tiền sử động kinh, tim mạch.
- Bệnh nhân có tổn thương da (ba đỏ, bóng nước, sẩn ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định.
- Bệnh nhân đang dùng 1 số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dừng trước làm test da
Kháng histamine Kháng H1 thế hệ 1 Hydroxyzine	> 2 ngày
Kháng H1 thế hệ 2 Certizine hydrochloride, Loratadin, Ketotifen	> 7 ngày > 5 ngày

H2 Blocker	Không
Glucocorticoid	
Tại chỗ	> 1 tuần
Đường mũi	0
Đường hít	0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày	
< 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày
> 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày	
< 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	0
> 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 tuần
Ức chế Calcineurin	> 1 tuần
Một số thuốc khác	
Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm	
Doxepin hydrochloride	7 ngày
Desipramine	3 ngày

4. THẬN TRỌNG

- Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn Beta, ức chế enzyme chuyển dạng Angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị Adrenalin nếu có phản vệ xảy ra)

- Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính (Negative control - Natriclorua 0.9%): 1 giọt
- Chứng Dương tính (Positive control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%): 1 giọt
- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống

- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 μ l
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Kim luôn Catheter
- Dây truyền
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn

- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm, các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau quá trình làm test nội bì
- Ký cam kết đồng ý làm thủ thuật và đo chỉ số sinh tồn (mạch, huyết áp, SPO₂) trước khi làm test nội bì.
- Khai thác tiền sử dị ứng và các bệnh đồng mắc.
- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng thuốc có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test nội bì
- Người bệnh đồng ý tham gia làm test nội bì
- Người bệnh tự túc Vacxin, huyết thanh theo chỉ định xét nghiệm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Vacxin, Huyết thanh được pha loãng theo nồng độ chuẩn từ: 1/1000 - 1/100 - 1/10 so với nồng độ test da tùy theo từng loại Vacxin, Huyết thanh và dựa vào tiền sử mức độ dị ứng với Vacxin, Huyết thanh nghi ngờ.
- Bệnh nhân phải được thực hiện test lấy da trước khi thực hiện test nội bì.
- Vị trí test: mặt trong cẳng tay. Vị trí làm test cách cổ tay 5cm và khuỷu tay 3cm tính từ hố khuỷu. Không làm test da ở các vị trí viêm da đang hoạt động, tổn thương da nghiêm trọng và hình xăm.

- Đánh dấu vị trí test của chứng âm và từng dị nguyên.
- Làm sạch, sát trùng vị trí test bằng cồn 70° và để khô.
- Dùng kim chuẩn tiêm 0.02 - 0.05ml thuốc đã pha loãng vào trong da để tạo nên sản có đường kính 3mm.

6.2. Nhận định kết quả

- Kết quả đọc sau 30 phút - 60 phút - 6 giờ - 24 giờ - 72 giờ - 96 giờ... > 1 tuần tùy từng loại thuốc thử.
- Sử dụng thước đo để ghi lại kích thước của nốt sẩn, đơn vị: milimet. Kết quả của được tính bằng đường kính trung bình của nốt sẩn, $(D + d)/2$ (với D là đường kính lớn nhất của nốt sẩn, d là đường kính lớn nhất trục giao với D). Kết quả test nội bì được coi là dương tính khi kích thước của sẩn tăng lên ít nhất 3mm và có quầng kèm theo. Bất kỳ ban đỏ thâm nhiễm nào (nốt sẩn, hồng ban thâm nhiễm, ban đỏ đơn thuần, chàm có nốt sẩn và/hoặc mụn nước) đều được coi là kết quả dương tính

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - Sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - Sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu Sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mào đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Skin Testing in Allergen Standardization and Research, Immunology and Allergy Clinics of North America, Volume 21, Issue 2, 1 May 2001, Pages 329-354
2. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. Ansotegui et al. World Allergy Organization Journal (2020) 13:100080. <http://doi.org/10.1016/j.waojou.2019.100080>

3. Stone CA Jr, Rukasin CRF, Beachkofsky TM, Phillips EJ. Immune-mediated adverse reactions to vaccines. *Br J Clin Pharmacol*. 2019 Dec;85(12):2694-2706.
4. Niederberger V, Marth K, Eckl-Dorna J, Focke-Tejkl M, Weber M, Hemmer W, Berger U, Neubauer A, Stolz F, Henning R, Valenta R. Skin test evaluation of a novel peptide carrier-based vaccine, BM32, in grass pollen-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Oct;136(4):1101-3.e8.
5. Nilsson L, Csuth Á, Storsaeter J, Garvey LH, Jenmalm MC. Vaccine allergy: evidence to consider for COVID-19 vaccines. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2021 Aug 1;21(4):401-409.

68. TEST ÁP BÌ (PATCH TEST) ĐẶC HIỆU VỚI THUỐC (ĐỐI VỚI 6 LOẠI THUỐC)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Test áp là xét nghiệm in vivo giúp cung cấp bằng chứng trong các phản ứng quá mẫn muộn và giúp xác định nguyên nhân gây nên tình trạng quá mẫn muộn

1.2.2. Nguyên lý

Dựa vào cơ chế phản ứng quá mẫn type IV (theo phân loại của Gell và Coombs). Khi đưa một lượng nhỏ dị nguyên vào tổ chức da người bệnh dị ứng, nếu là dị nguyên đặc hiệu sẽ gắn với lympho bào mẫn cảm có sự tham gia của đại thực bào, làm giải phóng các hoá chất trung gian có tên gọi chung là Lymphokin, gây ra những rối loạn chức năng, làm tổn thương tổ chức (viêm, loét da).

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Chẩn đoán các phản ứng dị ứng chậm (Type IV) với các DN thuốc.

2. CHỈ ĐỊNH

Khi có một trong các phản ứng sau nghi ngờ gây ra do thuốc:

- Các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn muộn (Type IV).
- Eczema (do tiếp xúc hoặc do các nguyên nhân khác).
- Phản ứng da do ánh sáng.
- Mày đay loại hình muộn, hồng ban nhiễm sắc cố định, hồng ban đa dạng, ban dát đỏ.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tổn thương da lan tỏa cấp tính.
- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng.
- Bệnh nhân có tiền sử nhiễm độc da nặng: Hội chứng Stevens - Johnson, hội chứng Lyell, hội chứng Dress ban đỏ mụn mủ.
- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ.
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm virus.
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định.
- Có tiền sử động kinh, tim mạch.
- Bệnh nhân có tổn thương da (da đỏ, bong nước, sản ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định.
- Bệnh nhân đang dùng 1 số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dừng trước làm test da
Kháng histamine Kháng H1 thế hệ 1 Hydroxyzine	> 2 ngày
Kháng H1 thế hệ 2 Certizine hydrochloride, Loratadin, Ketotifen H2 Blocker	> 7 ngày > 5 ngày Không
Glucocorticoid Tại chỗ Đường mũi Đường hít	> 1 tuần 0 0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày < 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone > 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày > 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày < 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone > 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone Ức chế calcineurin	0 > 3 tuần > 1 tuần
Một số thuốc khác Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm Doxepin hydrochloride Desipramine	7 ngày 3 ngày

4. THẬN TRỌNG

- Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn beta, ức chế enzyme chuyển dạng Angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị Adrenalin nếu có phản vệ xảy ra)
- Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính (Negative Control - Natriclorua 0.9%): 1 giọt
- Dầu than đá/Vaselin
- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống
- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 μ l
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cối nghiền thuốc (thuốc viên)
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Tấm ép Plastic làm Patch test
- Kim luồn Catheter
- Dây truyền
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ

- Bông, gạc sát khuẩn
- Khăn giấy lau tay
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế có chứa enzyme
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm, các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau quá trình làm test áp bì.
- Ký cam kết đồng ý làm thủ thuật và đo chỉ số sinh tồn (mạch, huyết áp, SPO₂) trước khi làm test áp bì.
- Khai thác tiền sử dị ứng và các bệnh đồng mắc.
- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng thuốc có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test áp bì
- Người bệnh đồng ý tham gia làm test áp bì
- Người bệnh tự túc thuốc theo chỉ định xét nghiệm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. Kiểm tra người bệnh: Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật

c. *Tư thế bệnh nhân*: Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Vị trí test áp: da nửa trên lưng, có thể sử dụng mặt ngoài cánh tay và đùi. Nếu bệnh nhân có tiền sử hồng ban nhiễm sắc cố định, cần thử test ngay tại vùng tổn thương. Tránh những vị trí có sẹo, mụn trứng cá hoặc hình xăm lớn.
- Thuốc thử được pha chế với dung dịch Glycerin (hoặc dầu than đá) theo nồng độ chuẩn đối với từng loại thuốc thử.
- Nhỏ thuốc thử đã pha lên các vị trí đã đánh dấu trên tấm ép Plastic và dán vào vị trí làm test

6.2. Nhận định kết quả

- Kết quả đọc sau 24 giờ - 48 giờ - 72 giờ hoặc 96 giờ, > 1 tuần tùy từng bệnh nhân và tùy từng loại thuốc thử.
- Kết quả Dương tính được chia theo các mức độ tùy theo phản ứng:

Ký hiệu	Hình thái phản ứng	Đánh giá
(-)	Không phản ứng	Âm tính
(+/-)	Chỉ ban đỏ nhẹ	Nghi ngờ
(+)	Ban đỏ, thâm nhiễm, có thể có sẩn	Dương tính nhẹ
(++)	Ban đỏ, thâm nhiễm, mụn sần, mụn nước	Dương tính mạnh
(+++)	Ban đỏ dữ dội, thâm nhiễm, mụn nước kết lại	Dương tính rất mạnh
IR	Các hình thái khác (hiệu ứng xà phòng, hoại tử, bọt nước)	Kích ứng

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - Sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - Sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mào đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tư 51/2017/ TT- BYT hướng dẫn phòng chẩn đoán và xử trí phản vệ
2. Vizserálek G et al. Permeability test for transdermal and local therapeutic patches using Skin PAMPA method. *Eur J Pharm Sci.* 2015 Aug 30;76:165-72.
3. European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing - recommendations on best practice. *Contact Dermatitis* 2015;73, 195-221.
4. Vaidyanathan V, Sarda A, De A, Dhar S. Atopy patch test. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2019 May-Jun;85(3):338-341.
5. Uyesugi BA, Sheehan MP. Patch Testing Pearls. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2019 Feb;56(1):110-118.
6. Prabha N, Yadav H. Various techniques for marking patch test sites. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2023 Jul-Aug;89(4):622-625.

69. TEST ÁP BÌ (PATCH TEST) ĐẶC HIỆU VỚI MỸ PHẨM

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Test áp là xét nghiệm in vivo giúp cung cấp bằng chứng trong các phản ứng quá mẫn muộn và giúp xác định nguyên nhân gây nên tình trạng quá mẫn muộn

1.2.2. Nguyên lý

Dựa vào cơ chế phản ứng quá mẫn type IV (theo phân loại của Gell và Coombs). Khi đưa một lượng nhỏ dị nguyên vào tổ chức da người bệnh dị ứng, nếu là dị nguyên đặc hiệu sẽ gắn với Lympho bào mẫn cảm có sự tham gia của đại thực bào, làm giải phóng các hoá chất trung gian có tên gọi chung là Lymphokin, gây ra những rối loạn chức năng, làm tổn thương tổ chức (viêm, loét da).

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Chẩn đoán các phản ứng dị ứng chậm (Type IV) với các dị nguyên mỹ phẩm

2. CHỈ ĐỊNH

Khi có một trong các phản ứng sau nghi ngờ gây ra do mỹ phẩm:

- Các phản ứng dị ứng loại hình quá mẫn muộn (Type IV).
- Eczema (do tiếp xúc hoặc do các nguyên nhân khác).
- Phản ứng da do ánh sáng.
- Mày đay loại hình muộn, hồng ban nhiễm sắc cố định, hồng ban đa dạng, ban dát đỏ.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tổn thương da lan tỏa cấp tính.
- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng.
- Bệnh nhân có tiền sử nhiễm độc da nặng: Hội chứng Stevens - Johnson, hội chứng Lyell, hội chứng Dress ban đỏ mụn mủ.
- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ.
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm virus.
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định.
- Có tiền sử động kinh, tim mạch.
- Bệnh nhân có tổn thương da (da đỏ, bóng nước, sần ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn Hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định.
- Bệnh nhân đang dùng một số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dùng trước làm test da
Kháng histamine Kháng H1 thế hệ 1 Hydroxyzine	> 2 ngày
Kháng H1 thế hệ 2 Certizine hydrochloride, Loratadin, Ketotifen H2 Blocker	> 7 ngày > 5 ngày Không
Glucocorticoid Tại chỗ Đường mũi Đường hít	> 1 tuần 0 0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày < 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone > 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày > 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày < 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone > 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone Ức chế calcineurin	0 > 3 tuần > 1 tuần
Một số thuốc khác Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm Doxepin hydrochloride Desipramine	7 ngày 3 ngày

4. THẬN TRỌNG

- Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn beta, ức chế enzyme chuyển dạng Angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị Adrenalin nếu có phản vệ xảy ra)
- Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính (Negative control - Natriclorua 0.9%): 1 giọt
- Dầu than đá/vaselin
- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống
- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 µl
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Tấm ép Plastic làm Patch test
- Kim luồn Catheter
- Dây truyền
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn

- Khăn giấy lau tay
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế có chứa enzyme
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm, các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau quá trình làm test áp bì.
- Ký cam kết đồng ý làm thủ thuật và đo chỉ số sinh tồn (mạch, huyết áp, SPO₂) trước khi làm test áp bì.
- Khai thác tiền sử dị ứng và các bệnh đồng mắc.
- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng thuốc có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test áp bì
- Người bệnh đồng ý tham gia làm test áp bì
- Người bệnh tự súc miệng phẩm theo chỉ định xét nghiệm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1-2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.
- b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*
- c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Vị trí test áp: Da nửa trên lưng, có thể sử dụng mặt ngoài cánh tay và đùi. Nếu bệnh nhân có tiền sử hồng ban nhiễm sắc cố định, cần thử test ngay tại vùng tổn thương. Tránh những vị trí có sẹo, mụn trứng cá hoặc hình xăm lớn.
- Mỹ phẩm thử được pha chế với dung dịch Glycerin (hoặc dầu than đá) theo nồng độ chuẩn đối với từng loại.
- Nhỏ mỹ phẩm đã pha lên các vị trí đã đánh dấu trên tấm ép Plastic và dán vào vị trí làm test

6.2. Nhận định kết quả

- Kết quả đọc sau 24 giờ - 48 giờ - 72 giờ hoặc 96 giờ, > 1 tuần tùy từng bệnh nhân và tùy từng loại thuốc thử.
- Kết quả Dương tính được chia theo các mức độ tùy theo phản ứng:

Ký hiệu	Hình thái phản ứng	Đánh giá
(-)	Không phản ứng	Âm tính
(+/-)	Chỉ ban đỏ nhẹ	Nghi ngờ
(+)	Ban đỏ, thâm nhiễm, có thể có sẩn	Dương tính nhẹ
(++)	Ban đỏ, thâm nhiễm, mụn sẩn, mụn nước	Dương tính mạnh
(+++)	Ban đỏ dữ dội, thâm nhiễm, mụn nước kết lại	Dương tính rất mạnh
IR	Các hình thái khác (hiệu ứng xà phòng, hoại tử, bong nước)	Kích ứng

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - Sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - Sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: Ban đỏ trên da, mào đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biện chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tư 51/2017/ TT- BYT hướng dẫn phòng chẩn đoán và xử trí phản vệ
2. European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing - recommendations on best practice. *Contact Dermatitis* 2015,73, 195-221.
3. Vaidyanathan V, Sarda A, De A, Dhar S. Atopy patch test. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2019 May-Jun;85(3):338-341.
4. Uyesugi BA, Sheehan MP. Patch Testing Pearls. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2019 Feb;56(1):110-118.
5. Prabha N, Yadav H. Various techniques for marking patch test sites. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2023 Jul-Aug;89(4):622-625.

70. PHẢN ỨNG PHÂN HỦY MASTOCYTE (ĐỐI VỚI 6 LOẠI DỊ NGUYÊN)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Chẩn đoán, xác định tình trạng dị ứng với một dị nguyên thuốc đặc hiệu

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Tế bào Mastocyte ở màng bụng chuột cống trắng được rửa sạch, ủ với huyết thanh ở nhiệt độ 37 °C cùng với dị nguyên nghi vấn. Hỗn hợp này được nhuộm và soi dưới kính hiển vi, tìm tế bào phân hủy đặc hiệu kháng nguyên.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Pipet 2 -20 µl
- Pipet 10 -200 µl
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Kéo y tế
- Panh có máu
- Bình thủy tinh có nắp
- Buồng đếm tế bào Mastocyte
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Thuốc nhuộm Xanhtoludin
- Eter/ Chlorofoc
- Natriclorid 0,9% 500ml
- Thuốc được chỉ định xét nghiệm (BN tự túc)

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Chuột cống trắng
- Bơm tiêm nhựa 20ml
- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml

- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu 3ml
- Ống nghiệm 14x105
- Ống ly tâm đáy tròn
- Pipettor thủy tinh
- Đầu côn vàng
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Mũ giấy
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Túi nilon đựng rác
- Quần áo nhân viên
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

2.3. Trang thiết bị

- Kính hiển vi
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút âm
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô
- Tủ ấm 37°C
- Máy li tâm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt

- Giá inox để vật tư 3 tầng
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bản....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Loại bệnh phẩm: Máu tĩnh mạch, 01 ống không có chất chống đông.
- Tiêu chuẩn mẫu bệnh phẩm:
 - + Ống không có chất chống đông: thể tích 3-5ml, mẫu máu không bị đục, không vỡ hồng cầu;
 - + Trên ống có ghi đầy đủ thông tin: tên, tuổi, khoa, giường hoặc barcode nhận dạng bệnh nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

- Chuột cống trắng được gây mê bằng Eter hoặc Chlorofoc,
- Cố định chuột trên bàn mổ chuột
- Lấy hết máu bằng cách bộc lộ động mạch nách (hoặc cắt đầu),
- Bơm 10ml nước muối sinh lý hoặc môi trường 199 có chứa EDTA (0.5mg/l, điều chỉnh PH 6.8 - 7.0), vào ổ bụng sau khi đã tách bỏ lớp da bộc lộ màng bụng
- Mát xa nhẹ 2 phút, hút lấy nước ở ổ bụng vào ống nghiệm,
- Ly tâm 1000 vòng/ 5 phút
- Lấy cận tế bào, trộn với 3 ml nước muối sinh lý 0.9% (nếu không dùng hết bảo quản nhiệt độ 4-8 °C trong vòng 4 giờ).

- Lấy 5 ống nghiệm và nhỏ lần lượt các dung dịch theo sơ đồ sau (áp dụng cho 1 dị nguyên):

Ống phản ứng DD thí nghiệm	Ống chứng DN nồng độ 50mg/ml(μl)	Ống chứng DN nồng độ 25mg/ml(μl)	Ống chứng HT (μl)	Ống phản ứng 1(μl)	Ống phản ứng 2(μl)
HT BN			25	25	25
DN	25	25		25	25
NaCl 0.9 %	25	25	25		
TB mast	25	25	25	25	25

- Ủ trong tủ ấm ở 37 °C , 30 phút
- Nhỏ 25 μl dung dịch thuốc nhuộm Xanh Toludin
- Kiểm tra ống chứng dị nguyên và ống chứng huyết thanh
- Đọc kết quả bằng kính hiển vi điện tử: Đếm 100 tế bào bất kỳ. Tính tỷ lệ % tế bào phân hủy (màng tế bào bị vỡ, giải phóng các hạt Histamin hoặc màng tế bào chất nhả nheo, tế bào phình to méo mó).

4.2. Nhận định kết quả

- Gọi P0 là số lượng tế bào phân hủy đếm được ở ống phản ứng
- Gọi Pc là số lượng tế bào phân hủy đếm được ở ống chứng huyết thanh bệnh nhân
- Gọi P là tỷ lệ phân hủy tế bào thực

Ta có: $P(\%) = P0/100 - Pc/100$

- Tỷ lệ phân hủy > 10% được xem là dương tính (độ phân hủy càng cao, mức độ chính xác càng lớn, mức độ dị ứng càng mạnh).

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:
 - + Huyết thanh tan huyết
 - + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: Xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

- Hoạt động của hệ thống máy phục vụ xét nghiệm không ổn định.

Giải pháp: Thực hiện bảo dưỡng, hiệu chuẩn máy theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm

Giải pháp: Thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Trả sai kết quả xét nghiệm.

Giải pháp: Quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.
- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rajia Bahri, Silvia Bulfone-Paus. Mast Cell Activation Test (MAT). Methods Mol Biol. 2020;2163:227-238.
2. Bahri R, Custovic A, Korosec P, Tsoumani M, Barron M, Wu J, Sayers R, Weimann A, Ruiz-Garcia M, Patel N, Robb A, Shamji MH, Fontanella S, Silar M, Mills ENC, Simpson A, Turner PJ, Bulfone-Paus S. Mast cell activation test in the diagnosis of allergic disease and anaphylaxis. J Allergy Clin Immunol. 2018 Aug;142(2):485-496.e16.
3. Elst J, Sabato V, van der Poorten MM, Van Gasse AL, Van Houdt M, Bridts CH, Walschot M, Timmermans JP, Pintelon I, Mertens C, Ebo DG. Basophil and mast cell activation tests by flow cytometry in immediate drug hypersensitivity: Diagnosis and beyond. J Immunol Methods. 2021 Aug;495:113050.
4. M Bodinier, C Brossard, S Triballeau, et al. Evaluation of an in vitro mast cell degranulation test in the context of food allergy to wheat. Int Arch Allergy Immunol. 2008;146(4):307-20.

71. PHẢN ỨNG TIÊU BẠCH CẦU ĐẶC HIỆU

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích của kỹ thuật

Chẩn đoán, xác định tình trạng dị ứng với một dị nguyên đặc hiệu

1.2. Định nghĩa, nguyên lý

Dị nguyên đặc hiệu khi vào máu kết hợp với kháng thể, phức hợp dị nguyên kháng thể hoạt hóa bổ thể, bổ thể tham gia quá trình phân hủy tế bào.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện

- Bác sỹ
- Kỹ thuật y

2.2. Vật tư

2.2.1. Dụng cụ

- Buồng đếm hồng bạch cầu
- Pipet 10 -200 µl
- Pipet 2- 20 µl
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Bình thủy tinh có nắp
- Nhiệt kế, ẩm kế

2.2.2. Hóa chất, thuốc thử

- Acid Acetic
- chứng âm tính (Negative control)
- chứng dương tính (Positive control)
- Natriclorid 0,9% 500ml

2.2.3. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Ống đựng máu 3ml
- Ống nghiệm 14x105
- Pipettor thủy tinh
- Ống ly tâm đáy tròn
- Đầu côn vàng

- Đầu côn xanh
- Găng lấy mẫu
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

2.3. Trang thiết bị

- Kinh hiển vi điện tử
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Tủ lạnh lưu mẫu
- Tủ lạnh đựng hóa chất
- Tủ sấy khô Memmert
- Tủ ấm 37°C
- Máy li tâm
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Giá inox để vật tư 3 tầng
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông - ống đựng máu tiêu chuẩn. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem li tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương cho vào ống tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm phải bảo quản làm lạnh ở 2 - 8°C cho tối thiểu 5 ngày hoặc -20°C trong 6 tháng.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm: có đầy đủ thông tin theo quy định: họ tên người bệnh, tuổi, giường bệnh, tên khoa phòng, chẩn đoán, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu bệnh phẩm ...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2 -3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm.

3. AN TOÀN

- Mặc trang phục bảo hộ khi làm xét nghiệm;
- Dụng cụ, vật tư tiêu hao sau khi làm xét nghiệm phải cho vào hộp dụng cụ chứa chất thải y tế theo quy định;
- Mẫu bệnh phẩm được lưu và hủy theo quy định;
- Xử lý sự cố tràn đổ theo quy định;
- Vệ sinh sạch sẽ khu vực làm việc trước và sau khi kết thúc buổi làm việc;
- Các điều kiện môi trường phòng xét nghiệm: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng ... được theo dõi, giám sát và đảm bảo theo quy định;
- Các trang thiết bị làm xét nghiệm được bảo dưỡng, hiệu chuẩn theo quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

1. Lấy các ống nghiệm và nhỏ lần lượt các dung dịch sau:

Dung dịch thí nghiệm (ml)	Ống phản ứng	Ống chứng
Máu bệnh nhân	50	50
Dị nguyên	50	
NaCl 0,9%		50

2. Để tủ ấm 37°C trong 2 giờ, cứ 15 phút lắc nhẹ 1 lần

3. Cho vào ống chứng và ống phản ứng 950 ml dung dịch phá vỡ hồng cầu (acid acetic) lắc nhẹ.

4. Nhỏ vào buồng đếm các dịch ở ống chứng và ống phản ứng, đếm số lượng bạch cầu của từng ống.

5. Cách đếm: đếm số lượng bạch cầu trong toàn bộ buồng đếm.

6. Đánh giá kết quả:

Gọi B_0 là số lượng bạch cầu đếm được ở ống phản ứng

Gọi B_k là số lượng bạch cầu đếm được trong ống chứng.

Ta có: chỉ số tiêu bạch cầu (CSBC)

$$B_k - B_0$$

$$CSBC = \frac{B_k - B_0}{B_k} \times 100$$

4.2. Nhận định kết quả

- Chỉ số này được coi là dương tính khi $\geq 10\%$
- Dương tính (+): 10% - 15%
- Dương tính (++): 15% - 20%
- Dương tính (+++): 20% - 30%
- Dương tính (++++): $> 30\%$

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chất lượng của mẫu bệnh phẩm:
- + Huyết thanh tan huyết
- + Huyết thanh đục

Giải pháp: Không sử dụng mẫu máu bị tan máu để làm xét nghiệm; đối với mẫu máu vàng, đục bất thường do bệnh lý cần hòa loãng bệnh phẩm để thực hiện lại xét nghiệm.

- Tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất:

Giải pháp: xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm

- Thuốc thử, hóa chất không đảm bảo chất lượng (hết hạn, hỏng, lỗi..)

Giải pháp: Kiểm tra thuốc thử, hoá chất và thực hiện nội kiểm theo quy định.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thực hiện sai quy trình kỹ thuật.
- Đọc, nhận định và phiên giải sai kết quả xét nghiệm

Giải pháp: thực hiện lại quy trình; đào tạo lại và đào tạo liên tục cho nhân viên

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Trả sai kết quả xét nghiệm.
- Giải pháp: quản lý bệnh nhân, chỉ định xét nghiệm và mẫu bệnh phẩm theo mã.

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Yêu cầu thực hiện nội kiểm chất lượng.

- Yêu cầu thực hiện ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Santos AF, Alpan O, Hoffmann HJ. Basophil activation test: Mechanisms and considerations for use in clinical trials and clinical practice. *Allergy*. 2021 Aug;76(8):2420-2432.
2. Hemmings O, Kwok M, McKendry R, Santos AF. Basophil Activation Test: Old and New Applications in Allergy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2018 Nov 15;18(12):77.
3. Hausmann OV, Gentinetta T, Bridts CH, Ebo DG. The basophil activation test in immediate-type drug allergy. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2009 Aug;29(3):555-66.
4. Irma Garcia-Martinez, Theresa R Weiss, Muhammad N Yousaf, Ather Ali, Wajahat Z Mehal. A leukocyte activation test identifies food items which induce release of DNA by innate immune peripheral blood leucocytes. *Nutr Metab (Lond)*. 2018 Apr 11:15:26.

72. LIỆU PHÁP MIỄN DỊCH ĐẶC HIỆU ĐƯỜNG DƯỚI LƯỚI VỚI DỊ NGUYÊN (GIAI ĐOẠN BAN ĐẦU - THỜI GIAN ĐIỀU TRỊ TRUNG BÌNH 15 NGÀY)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

Đưa dị nguyên vào cơ thể với liều lượng - nồng độ tăng dần giúp làm tăng nồng độ kháng thể IgG1 và IgG4., do đó làm giảm nồng độ kháng thể IgE đặc biệt trong máu, làm thay đổi trạng thái của tế bào có liên quan trong phản ứng dị ứng, điều tiết sự hoạt động của TB lympho TH₁ và TH₂ dẫn đến sự thay đổi mức độ của Cytokines (Ngăn chặn IL₄ và kích thích IFN) do đó làm giảm phản ứng co thắt phế quản trong giai đoạn chậm.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Giảm phản ứng co thắt phế quản trong giai đoạn chậm.

2. CHỈ ĐỊNH

- Dị ứng type nhanh (qua trung gian IgE) được xác định qua test da hoặc định lượng IgE đặc hiệu với một số dị nguyên như phấn hoa, mạt bọ nhà, lông súc vật...
- Viêm mũi dị ứng
- Viêm kết mạc dị ứng
- Hen phế quản dị ứng có mẫn cảm với dị nguyên mạt bọ nhà không đạt được kiểm soát hen với điều trị từ bậc 3 trở lên và FEV₁ $\geq$ 70% giá trị lý thuyết.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Chống chỉ định tuyệt đối:
 - + Suy giảm miễn dịch nặng
 - + Rối loạn chức năng tuần hoàn nặng
 - + Mắc bệnh ác tính, bệnh viêm mạn tính.
 - + Hen phế quản nặng: FEV₁ < 70% giá trị lý thuyết bất chấp điều trị.
 - + Điều trị thuốc chẹn beta.
 - + Rối loạn tâm thần nặng, không có khả năng tuân thủ điều trị
- Chống chỉ định tương đối:
 - + Phụ nữ có thai
 - + Bệnh lý viêm niêm mạc đường tiêu hóa
 - + Nhiễm trùng cấp
 - + Sau nhổ răng, can thiệp phẫu thuật vùng miệng

4. THẬN TRỌNG

- Liều điều trị đầu tiên cần được theo dõi bởi thầy thuốc để đánh giá tính dung nạp.

- Bệnh nhân cần được giáo dục về nguyên lý của phương pháp điều trị và các yêu cầu về tính tuân thủ điều trị.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Dị nguyên - Sinh phẩm điều trị
- Chứng Âm tính (Negative control)
- Chứng Dương tính (Positive control)
- Methylprednisolone 40mg
- Dobutamin hydrochloride 250mg
- Morphin hydrochloride 0.1% - 2ml
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10mg
- Salbutamol 0,5 mg
- Natriclorid 0,9% 100ml
- Natriclorid 0,9% 500ml

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 10 -200 µl
- Giá cắm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cân điện tử
- Thước đo
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim luồn Catheter
- Dây truyền huyết thanh
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối

- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Khẩu trang (2 cái/người/ngày)
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay (20ml/lần x 4 người)
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Tủ lạnh đựng sinh phẩm
- Tủ sấy khô
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

Người bệnh cần được tư vấn kỹ càng về mục đích của điều trị liệu pháp miễn dịch đặc hiệu đường dưới lưỡi với dị nguyên giai đoạn ban đầu.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1-2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

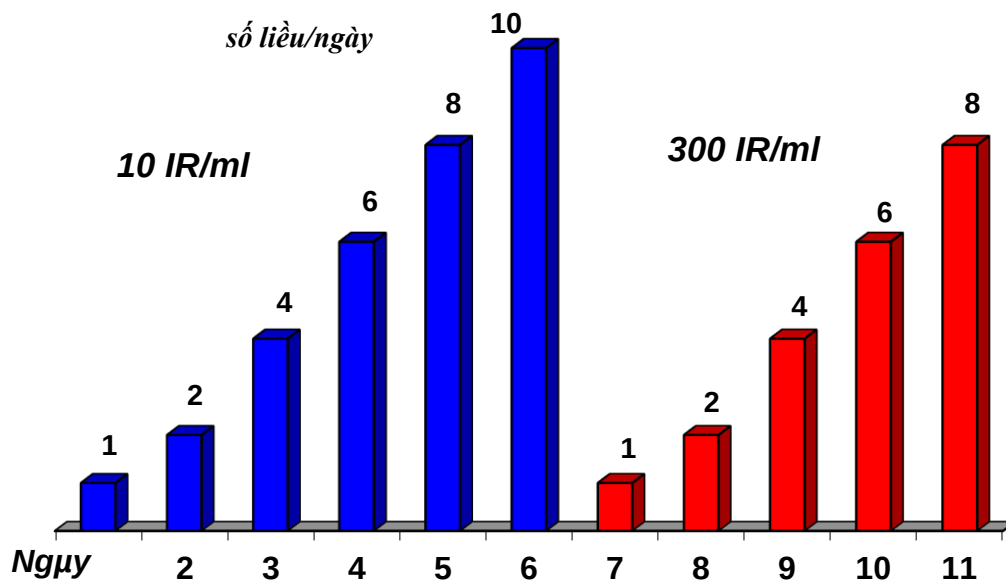
b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Giai đoạn ban đầu: giai đoạn đáp ứng nhanh - thời gian điều trị trung bình 15 ngày.
- Kiểm tra hồ sơ của bệnh nhân.
- Kiểm tra người bệnh.
- Thực hiện kỹ thuật:



- Liều gia tăng hàng ngày tới liều cao nhất chịu được nên theo quy trình trên
- Quy trình trên có thể điều chỉnh tùy thuộc phản ứng của mỗi bệnh nhân
- Với những bệnh nhân rất nhạy cảm, việc điều trị nên được bắt đầu ở nồng độ thấp hơn.

6.2. Nhận định kết quả

Sau quá trình thực hiện liệu pháp bệnh nhân giảm phản ứng co thắt phế quản trong giai đoạn chậm.

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

Rất hiếm gặp, chỉ là những biểu hiện thoáng qua, ít khi phải ngừng điều trị:

- + Ngứa phù vùng hầu họng
- + Mày đay
- + Rối loạn tiêu hóa
- + Không có phản ứng nặng toàn thân được ghi nhận.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Quirino T, Iemoli E, Siciliani E, Parmiani S. Sublingual vs injective immunotherapy in grass pollen allergic patients: a double blind double dummy study. Clin Exp Allergy 1996;26:1253- 61.
2. Di Rienzo V, Marcucci F, Puccinelli P, Parmiani S, Frati F, Sensi L, et al. Long lasting effect of sublingual immunotherapy in children with asthma due to house dust mites: a ten-year prospective study. Clin Exp Allergy 2003;33:206- 10.
3. Kagi MK, Wutrich B. Different methods of local allergen immunotherapy. Allergy 2002; 57:379- 88.
4. Tonnel AB, Scherpereel A, Douay B, Mellin B, Leprince D, Goldsteian N, Delecluse P, André C. Allergic rhinitis due to house dust mites: evaluation of the efficacy of specific sublingual immunotherapy .Allergy. 2004; 59: 491 - 497.
5. Blaiss M, DuBuske L, Nolte H, Opstrup M, Rance K. A practical guide to prescribing sublingual immunotherapy tablets in North America for pediatric allergic rhinoconjunctivitis: an injection-free allergy immunotherapy option. Front Pediatr. 2023 Oct 4;11:1244146.
6. S Zielen, P Devillier, J Heinrich, H Richter 4, U Wahn. Sublingual immunotherapy provides long-term relief in allergic rhinitis and reduces the risk of asthma: A retrospective, real-world database analysis. Allergy. 2018 Jan;73(1):165-177.
7. Devillier P, Molimard M, Ansolabehere X, Bardoulat I, Coulombel N, Maurel F, Le Jeune P, Demoly P. Immunotherapy with grass pollen tablets reduces medication dispensing for allergic rhinitis and asthma: A retrospective database study in France. Allergy. 2019 Jul;74(7):1317-1326.
8. Virchow JC, Pfaar O, Lommatzsch M. Allergen immunotherapy for allergic asthma. Allergol Select. 2024 Jan 12;8:6-11.

73. LIỆU PHÁP MIỄN DỊCH ĐẶC HIỆU ĐƯỜNG DƯỚI LƯỠI VỚI DỊ NGUYÊN (GIAI ĐOẠN DUY TRÌ - THỜI GIẠN ĐIỀU TRỊ TRUNG BÌNH 3 THÁNG)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

Đưa dị nguyên vào cơ thể với liều lượng - nồng độ tăng dần giúp làm tăng nồng độ kháng thể IgG1 và IgG4., do đó làm giảm nồng độ kháng thể IgE đặc biệt trong máu, làm thay đổi trạng thái của tế bào có liên quan trong phản ứng dị ứng, điều tiết sự hoạt động của TB Lympho TH₁ và TH₂ dẫn đến sự thay đổi mức độ của Cytokines (Ngăn chặn IL₄ và kích thích IFN) do đó làm giảm phản ứng co thắt phế quản trong giai đoạn chậm.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Giảm phản ứng co thắt phế quản trong giai đoạn chậm.

2. CHỈ ĐỊNH

- Dị ứng type nhanh (qua trung gian IgE) được xác định qua test da hoặc định lượng IgE đặc hiệu với một số dị nguyên như phấn hoa, mạt bọ nhà, lông súc vật...
- Viêm mũi dị ứng
- Viêm kết mạc dị ứng
- Hen phế quản dị ứng có mẫn cảm với dị nguyên mạt bọ nhà không đạt được kiểm soát hen với điều trị từ bậc 3 trở lên FEV₁ ≥ 70% giá trị lý thuyết.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Chống chỉ định tuyệt đối:
 - + Suy giảm miễn dịch nặng
 - + Rối loạn chức năng tuần hoàn nặng
 - + Mắc bệnh ác tính, bệnh viêm mạn tính.
 - + Hen phế quản nặng: FEV₁ < 70% giá trị lý thuyết bất chấp điều trị.
 - + Điều trị thuốc chẹn beta.
 - + Rối loạn tâm thần nặng, không có khả năng tuân thủ điều trị
- Chống chỉ định tương đối:
 - + Phụ nữ có thai
 - + Bệnh lý viêm niêm mạc đường tiêu hóa
 - + Nhiễm trùng cấp
 - + Sau nhổ răng, can thiệp phẫu thuật vùng miệng

4. THẬN TRỌNG

- Liều điều trị đầu tiên cần được theo dõi bởi thầy thuốc để đánh giá tính dung nạp.

- Bệnh nhân cần được giáo dục về nguyên lý của phương pháp điều trị và các yêu cầu về tính tuân thủ điều trị.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật viên: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Dị nguyên - Sinh phẩm điều trị
- Chứng Âm tính (Negative control)
- Chứng Dương tính (Positive control)
- Methylprednisolone 40mg
- Dobutamin 250mg
- Morphin hydrochloride 0.1% - 2ml
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10mg
- Salbutamol 0,5 mg
- Natriclorid 0,9% 100ml
- Natriclorid 0,9% 500ml

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 10 -200 µl
- Giá cắm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cân điện tử
- Thước đo
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim luồn Catheter
- Dây truyền huyết thanh
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối

- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Khẩu trang (2 cái/người/ngày)
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay (20ml/lần x 4 người)
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Máy hút ẩm
- Tủ lạnh đựng sinh phẩm
- Tủ sấy khô
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

Người bệnh cần được tư vấn kỹ càng về mục đích của điều trị liệu pháp miễn dịch đặc hiệu đường dưới lưỡi với dị nguyên giai đoạn ban đầu.

5.6. Hồ sơ bệnh án : Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1-2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

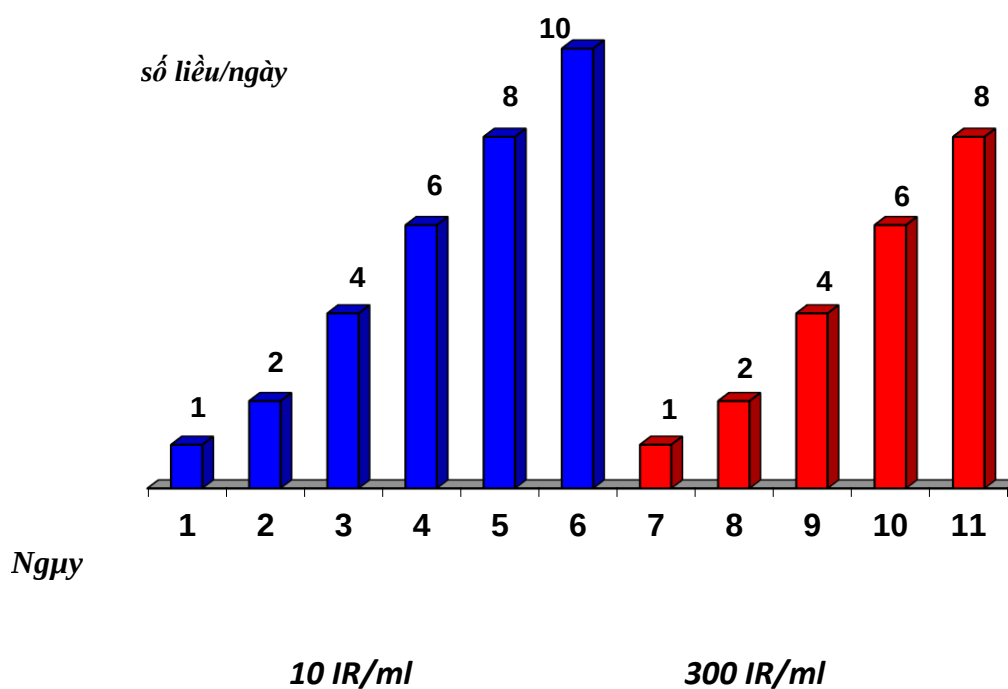
c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

Giai đoạn duy trì:

- Giai đoạn đáp ứng chậm - 300 IR/mL- thời gian điều trị trung bình 3 tháng.
- Kiểm tra hồ sơ của bệnh nhân
- Kiểm tra người bệnh.
- Thực hiện kỹ thuật:
- Liều điều trị tối thiểu được đề nghị:
- 4 liều mỗi ngày
- Hoặc 8 liều 3 lần/tuần.
- Nồng độ 300 IR cho thấy kiểm soát mục tiêu lâm sàng là nồng độ thích hợp nhất giúp đến nhanh liều tích lũy.



- Liều gia tăng hàng ngày tới liều cao nhất chịu được nên theo quy trình trên
- Quy trình trên có thể điều chỉnh tùy thuộc phản ứng của mỗi bệnh nhân

- Với những bệnh nhân rất nhạy cảm, việc điều trị nên được bắt đầu ở nồng độ thấp hơn,
- Giai đoạn duy trì phải được tiếp tục ít nhất 3-5 năm.
- Liệu trình điều trị nên ngừng nếu không thấy cải thiện trong thời gian:
 - + 9 - 12 tháng (trong dị ứng quanh năm)
 - + Sau 2 mùa phấn hoa (cho dị ứng theo mùa)

6.2. Nhận định kết quả

Sau quá trình thực hiện liệu pháp bệnh nhân giảm phản ứng cơ thắt phế quản trong giai đoạn chậm.

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

Rất hiếm gặp, chỉ là những biểu hiện thoáng qua, ít khi phải ngừng điều trị:

- + Ngứa phù vùng hầu họng
- + Mày đay
- + Rối loạn tiêu hóa
- + Không có phản ứng nặng toàn thân được ghi nhận.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Quirino T, Iemoli E, Siciliani E, Parmiani S. Sublingual vs injective immunotherapy in grass pollen allergic patients: a double blind double dummy study. Clin Exp Allergy 1996;26:1253- 61.
2. Di Rienzo V, Marcucci F, Puccinelli P, Parmiani S, Frati F, Sensi L, et al. Long lasting effect of sublingual immunotherapy in children with asthma due to house dust mites: a ten-year prospective study. Clin Exp Allergy 2003;33:206- 10.
3. Kagi MK, Wutrich B. Different methods of local allergen immunotherapy. Allergy 2002; 57:379- 88.
4. Tonnel AB, Scherpereel A, Douay B, Mellin B, Leprince D, Goldstein N, Delecluse P, André C. Allergic rhinitis due to house dust mites: evaluation of the efficacy of specific sublingual immunotherapy. Allergy. 2004; 59: 491 - 497.
5. Blaiss M, DuBuske L, Nolte H, Opstrup M, Rance K. A practical guide to prescribing sublingual immunotherapy tablets in North America for pediatric allergic rhinoconjunctivitis: an injection-free allergy immunotherapy option. Front Pediatr. 2023 Oct 4;11:1244146.
6. S Zielen, P Devillier, J Heinrich, H Richter, U Wahn. Sublingual immunotherapy provides long-term relief in allergic rhinitis and reduces the risk of asthma: A retrospective, real-world database analysis. Allergy. 2018 Jan;73(1):165-177.

7. Devillier P, Molimard M, Ansolabehere X, Bardoulat I, Coulombel N, Maurel F, Le Jeune P, Demoly P. Immunotherapy with grass pollen tablets reduces medication dispensing for allergic rhinitis and asthma: A retrospective database study in France. *Allergy*. 2019 Jul;74(7):1317-1326.

8. Virchow JC, Pfaar O, Lommatzsch M. Allergen immunotherapy for allergic asthma. *Allergol Select*. 2024 Jan 12;8:6-11.

74. GIẢM MẮN CẢM NHANH VỚI THUỐC 72 GIỜ

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Giảm miễn cảm với thuốc là phương pháp gây ra sự dung nạp tạm thời đối với thuốc dị ứng bằng cách dùng thuốc tăng dần, bắt đầu từ một lượng rất nhỏ đến đủ liều điều trị. Nó được sử dụng như một chiến lược điều trị cho những bệnh nhân quá mẫn cảm với thuốc khi không có lựa chọn thay thế hoặc thay thế sẽ làm giảm hiệu quả điều trị bệnh.

1.1.2. Nguyên lý

Với thuốc dị ứng theo cơ chế nhanh, việc nhắc lại từng liều nhỏ và tăng dần dị nguyên là thuốc gây dị ứng và sau mỗi khoảng thời gian cố định dẫn đến thay đổi của các con đường truyền tín hiệu trong tế bào Mast và bạch cầu ái kiềm, và giảm dòng Ca^{2+} . Ngăn chặn sự kích hoạt của tế bào Mast hoặc bạch cầu ái kiềm, tái cấu trúc màng tế bào Mast, ngăn cản sự xâm nhập phức hợp kháng nguyên/IgE/FcεRI và sự hình thành phức hợp kháng nguyên. Điều này dẫn đến ngăn cản sự mất hạt tế bào Mast, bạch cầu ái toan.

Trong trường hợp dị ứng chậm, việc nhắc lại từng liều nhỏ tăng dần làm suy giảm trí nhớ miễn dịch, gia tăng của CD4+CD25+ hoặc Tế bào T CD4+CD25+FOXP3+ biểu hiện các Cytokine điều hòa chẳng hạn như Interleukin 10 (IL-10) và IL-35 sau khi giảm miễn cảm đề xuất vai trò của tế bào T điều tiết, dẫn đến ngăn chặn phản ứng miễn dịch xảy ra trong tế bào.

Từ hai nguyên lý trên, việc dùng thuốc từ từ tăng dần từ liều nhỏ đến liều điều trị sau mỗi khoảng thời gian cố định thông qua cơ chế trên cho phép đưa lại thuốc vào cơ thể một cách an toàn.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Giảm miễn cảm với thuốc cho phép đưa lại các loại thuốc dị ứng/nguy cơ dị ứng cao cho bệnh nhân, là những thuốc cần cho liệu pháp điều trị đầu tay, không có thuốc thay thế hoặc nếu thay thế dẫn đến kém kiểm soát bệnh. Giảm miễn cảm được thực hiện bằng cách dùng liều cực thấp của loại thuốc dị ứng/nguy cơ dị ứng cao, dưới ngưỡng gây ra phản ứng quá mẫn, sau đó tăng liều dần dần vào khoảng thời gian cố định, để cho phép bệnh nhân dung nạp với lượng hoặc nồng độ thuốc nhất định; điều này dẫn đến sự phát triển khả năng dung nạp thuốc tạm thời, cuối cùng là dung nạp được ở liều điều trị cho bệnh nhân.

2. CHỈ ĐỊNH

- Bệnh nhân đã có kết quả test lấy da dương tính, hoặc test nội bì dương tính với thuốc.
- Trường hợp test da (bao gồm cả test lấy da và test nội bì) âm tính, bệnh nhân được tiến hành test kích thích với thuốc cho kết quả dương tính.

- Bệnh nhân đã được tiến hành làm test kích thích với thuốc và cho kết quả dương tính hoặc các bệnh nhân không đủ điều kiện thực hiện test kích thích nhưng qua khai thác tiền sử dị ứng nghi ngờ rất cao là tác nhân gây dị ứng.
- Thuốc được chỉ định làm giảm mẫn cảm phải là thuốc không có thuốc thay thế, hoặc là nếu thay thế thuốc làm giảm hiệu quả điều trị, tức là lợi ích nhiều hơn nguy cơ.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Bệnh phối hợp hoặc bệnh nhân hen phế quản không kiểm soát nhạy cảm với ASA, NSAIDS
- Chống chỉ định tuyệt đối với bệnh nhân nhiễm độc da nặng: SJS/TEN, HSS/DRESS

4. THẬN TRỌNG

- Bệnh nhân mắc bệnh tim mạch, hô hấp và những bệnh nhân sử dụng thuốc chẹn beta.
- Đánh giá lợi ích nguy cơ
- Đặt đường truyền tĩnh mạch, thực hiện tại trung tâm có khả năng cấp cứu sốc phản vệ
- Các bác sỹ cần sẵn sàng cấp cứu, dụng cụ và phương tiện hồi sức tim phổi đầy đủ, dễ sử dụng
- Các phác đồ có sẵn cần tính toán phù hợp
- Dùng được cả GMC đường uống và tiêm, chọn GMC đường uống an toàn hơn.
- Xây dựng làm việc theo nhóm, bệnh nhân được hướng dẫn nhận biết phản ứng sớm.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống
- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 µl
- Giá cầm đầu côn

- Giá đựng pipet man
- Cối nghiền thuốc (thuốc viên)
- Cốc thủy tinh chia thể tích 50 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 100 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 250 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 500 ml
- Bơm tiêm điện
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 50ml
- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Dây nối bơm tiêm điện
- Dây truyền
- Kim luồn Catheter
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ

- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh chỉ định, liệu pháp điều trị, sự cần thiết, hiệu quả và các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau khi tiến hành giảm mẫn cảm.
- Người bệnh và người nhà người bệnh đồng ý, chấp nhận nguy cơ và kí vào bản cam kết điều trị.
- Kiểm tra dấu hiệu sinh tồn của bệnh nhân (Mạch, nhiệt độ, huyết áp, SPO₂).
- Người bệnh tự túc thuốc theo chỉ định xét nghiệm
- Bệnh nhân trong tình trạng ổn định (hen được kiểm soát với FEV1 > 70%, bệnh tim mạch đang điều trị thuốc beta blocker...)
- Điều trị bằng thuốc trước giảm mẫn cảm (corticoid, kháng histamine, kháng IgE, kháng leukotriene,...) không thực hiện thường quy, chỉ dùng trong một số trường hợp đặc biệt dựa theo tiền sử dị ứng của bệnh nhân.
- Các phản ứng xảy ra trong quá trình GMC cần cân nhắc thay đổi phác đồ hoặc ngừng điều trị.
- Bệnh nhân tự túc thuốc giảm mẫn cảm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 36-72 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.
- Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*
- Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Khám bệnh nhân, khai thác kỹ tiền sử, bệnh sử và xây dựng phác đồ giảm mẫn cảm phù hợp với bệnh sử dị ứng của mỗi bệnh nhân.
- Đo mạch, nhiệt độ, huyết áp, SPO₂ và đánh giá toàn trạng cho bệnh nhân trước khi thực hiện
- Bệnh nhân được giải thích về chỉ định, nguy cơ, quy trình làm giảm mẫn cảm và kí cam kết điều trị.
- Pha thuốc: Với các nồng độ 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000 so với nồng độ thuốc pha chuẩn hoặc so với nồng độ thuốc test da dương tính, chia liều theo phác đồ bác sĩ đã xây dựng dựa trên tiền sử, bệnh sử dị ứng của từng bệnh nhân. Dán nhãn cho mỗi chai/ca thuốc tương ứng với mỗi nồng độ.
- Đặt đường truyền tĩnh mạch cho bệnh nhân, lắp máy theo dõi các chỉ số sinh tồn.
- Dùng bơm tiêm lấy thuốc từ các chai hoặc từ ca thuốc (với thuốc uống) đã pha sẵn có dán nhãn nồng độ theo phác đồ đã lên sẵn theo từng bước.
- Tiêm thuốc/uống thuốc/điều chỉnh tốc độ truyền trên máy bơm tiêm điện để đạt được liều theo phác đồ đã xây dựng.
- Khoảng cách thời gian giữa mỗi bước tùy thuộc vào tiền sử/bệnh sử dị ứng của bệnh nhân.
- Số bước làm dự kiến 12-16
- Trước mỗi bước bệnh nhân tăng liều thuốc đều được kiểm tra các chỉ số sinh tồn và các biểu hiện trên lâm sàng.
- Trường hợp bệnh nhân xuất hiện phản ứng nghi ngờ dị ứng trong quá trình thực hiện phải ngừng liệu pháp, cấp cứu. Điều chỉnh phác đồ giảm mẫn cảm theo tình trạng lâm sàng bệnh nhân.
- Kết thúc liệu pháp giảm mẫn cảm bệnh nhân phải dung nạp được với liều điều trị và không có triệu chứng dị ứng xảy ra.

6.2. Nhận định kết quả

Giải mẫn cảm thành công khi bệnh nhân đạt được liều điều trị và dung nạp liều đó cho tới khi hoàn tất quá trình điều trị

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mày đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tư 51/2017/ TT- BYT hướng dẫn phòng chẩn đoán và xử trí phản vệ
2. Castells, M. "Rapid desensitization for hypersensitivity reactions to medications". Immunol Allergy Clin North Am. 2009 Aug;29(3):585-606.
3. Castells, M. C. "Hypersensitivity to antineoplastic agents". Curr Pharm Des. 2008;14(27):2892-901.
4. Kang, Sung-Yoon, Jeongmin Seo, and Hye-Ryun Kang. "Desensitization for the prevention of drug hypersensitivity reactions." The Korean Journal of Internal Medicine 37.2 (2022): 261.
5. Alvarez-Cuesta, Emilio, et al. "Standards for practical intravenous rapid drug desensitization & delabeling: A WAO committee statement." World Allergy Organization Journal 15.6 (2022): 100640.

75. GIẢM MẮN CẢM VỚI THUỐC ĐƯỜNG TĨNH MẠCH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Giảm miễn cảm với thuốc là phương pháp gây ra sự dung nạp tạm thời đối với thuốc dị ứng bằng cách dùng thuốc tăng dần, bắt đầu từ một lượng rất nhỏ đến đủ liều điều trị. Nó được sử dụng như một chiến lược điều trị cho những bệnh nhân quá mẫn cảm với thuốc khi không có lựa chọn thay thế hoặc thay thế sẽ làm giảm hiệu quả điều trị bệnh.

1.1.2. Nguyên lý

Với thuốc dị ứng theo cơ chế nhanh, việc nhắc lại từng liều nhỏ và tăng dần dị nguyên là thuốc gây dị ứng và sau mỗi khoảng thời gian cố định dẫn đến thay đổi của các con đường truyền tín hiệu trong tế bào mast và bạch cầu ái kiềm, và giảm dòng Ca^{2+} . Ngăn chặn sự kích hoạt của tế bào Mast hoặc bạch cầu ái kiềm, tái cấu trúc màng tế bào Mast, ngăn cản sự xâm nhập phức hợp kháng nguyên/IgE/FcεRI và sự hình thành phức hợp kháng nguyên. Điều này dẫn đến ngăn cản sự mất hạt tế bào mast, bạch cầu ái toan.

Trong trường hợp dị ứng chậm, việc nhắc lại từng liều nhỏ tăng dần làm suy giảm trí nhớ miễn dịch, gia tăng của CD4+CD25+ hoặc Tế bào T CD4+CD25+FOXP3+ biểu hiện các cytokine điều hòa chẳng hạn như interleukin 10 (IL-10) và IL-35 sau khi giải miễn cảm đề xuất vai trò của tế bào T điều tiết, dẫn đến ngăn chặn phản ứng miễn dịch xảy ra trong tế bào.

Từ hai nguyên lý trên, việc dùng thuốc từ từ tăng dần từ liều nhỏ đến liều điều trị sau mỗi khoảng thời gian cố định thông qua cơ chế trên cho phép đưa lại thuốc vào cơ thể một cách an toàn.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Giảm miễn cảm với thuốc đường tĩnh mạch cho phép đưa lại các loại thuốc dị ứng/nguy cơ dị ứng cao cho bệnh nhân, là những thuốc cần cho liệu pháp điều trị đầu tay, không có thuốc thay thế hoặc nếu thay thế dẫn đến kém kiểm soát bệnh. Giảm miễn cảm được thực hiện bằng cách dùng liều cực thấp của loại thuốc dị ứng/nguy cơ dị ứng cao, dưới ngưỡng gây ra phản ứng quá mẫn, sau đó tăng liều dần dần vào khoảng thời gian cố định, để cho phép bệnh nhân dung nạp với lượng hoặc nồng độ thuốc nhất định; điều này dẫn đến sự phát triển khả năng dung nạp thuốc tạm thời, cuối cùng là dung nạp được ở liều điều trị cho bệnh nhân

2. CHỈ ĐỊNH

- Bệnh nhân đã có kết quả test lấy da dương tính, hoặc test nội bì dương tính với thuốc.
- Trường hợp test da (bao gồm cả test lấy da và test nội bì) âm tính, bệnh nhân được tiến hành test kích thích với thuốc cho kết quả dương tính.

- Bệnh nhân đã được tiến hành làm test kích thích với thuốc và cho kết quả dương tính hoặc các bệnh nhân không đủ điều kiện thực hiện test kích thích nhưng qua khai thác tiền sử dị ứng nghi ngờ rất cao là tác nhân gây dị ứng.
- Thuốc được chỉ định làm giảm mẫn cảm phải là thuốc không có thuốc thay thế, hoặc là nếu thay thế thuốc làm giảm hiệu quả điều trị, tức là lợi ích nhiều hơn nguy cơ.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Bệnh phối hợp hoặc bệnh nhân hen không kiểm soát nhạy cảm ASA, NSAIDS
- Lợi ích thấp hơn nguy cơ
- Chống chỉ định tuyệt đối với bệnh nhân nhiễm độc da nặng: SJS/TEN, HSS/DRESS

4. THẬN TRỌNG

- Bệnh nhân mắc bệnh tim mạch, hô hấp và những bệnh nhân sử dụng thuốc chẹn beta.
- Đánh giá lợi ích nguy cơ
- Đặt đường truyền tĩnh mạch, thực hiện tại trung tâm có khả năng cấp cứu sốc phản vệ
- Các bác sỹ cần sẵn sàng cấp cứu, dụng cụ và phương tiện hồi sức tim phổi đầy đủ, dễ sử dụng
- Các phác đồ có sẵn cần tính toán phù hợp
- Dùng được cả GMC đường uống và tiêm, chọn GMC đường uống an toàn hơn.
- Xây dựng làm việc theo nhóm, bệnh nhân được hướng dẫn nhận biết phản ứng sớm.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống
- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 µl

- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cốc đong (ml)
- Bơm tiêm điện
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 50ml
- Bơm tiêm nhựa 20ml
- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Dây nối bơm tiêm điện
- Dây truyền
- Kim luồn Catheter
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh chỉ định, liệu pháp điều trị, sự cần thiết, hiệu quả và các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau khi tiến hành giảm mẫn cảm.
- Người bệnh và người nhà người bệnh đồng ý, chấp nhận nguy cơ và kí vào bản cam kết điều trị.
- Kiểm tra dấu hiệu sinh tồn của bệnh nhân (Mạch, nhiệt độ, huyết áp, SPO₂).
- Người bệnh tự túc thuốc theo chỉ định xét nghiệm
- Bệnh nhân trong tình trạng ổn định (hen được kiểm soát với FEV1 > 70%, bệnh tim mạch đang điều trị thuốc beta blocker...)
- Điều trị bằng thuốc trước giảm mẫn cảm (corticoid, kháng histamine, kháng IgE, kháng leukotriene,...) không thực hiện thường quy, chỉ dùng trong một số trường hợp đặc biệt dựa theo tiền sử dị ứng của bệnh nhân.
- Các phản ứng xảy ra trong quá trình GMC cần cân nhắc thay đổi phác đồ hoặc ngừng điều trị.
- Bệnh nhân tự túc thuốc giảm mẫn cảm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 24- 36 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.
- b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*
- c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Khám bệnh nhân, khai thác kỹ tiền sử, bệnh sử và xây dựng phác đồ giảm mẫn cảm phù hợp với bệnh sử dị ứng của mỗi bệnh nhân.
- Đo mạch, nhiệt độ, huyết áp, SPO₂ và đánh giá toàn trạng cho bệnh nhân trước khi thực hiện
- Bệnh nhân được giải thích về chỉ định, nguy cơ, quy trình làm giảm mẫn cảm và kí cam kết điều trị.
- Pha thuốc: Với các nồng độ 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000 so với nồng độ thuốc pha chuẩn hoặc so với nồng độ thuốc test da dương tính, chia liều theo phác đồ bác sĩ đã xây dựng dựa trên tiền sử, bệnh sử dị ứng của từng bệnh nhân. Dán nhãn cho mỗi chai thuốc tương ứng với mỗi nồng độ theo phác đồ.
- Đặt đường truyền tĩnh mạch cho bệnh nhân, lắp máy theo dõi các chỉ số sinh tồn.
- Dùng bơm tiêm lấy thuốc từ các chai đã pha sẵn có dán nhãn nồng độ theo phác đồ đã lên sẵn theo từng bước.
- Điều chỉnh tốc độ truyền trên máy bơm tiêm điện để đạt được liều theo phác đồ đã xây dựng.
- Khoảng cách thời gian giữa mỗi bước tùy thuộc vào tiền sử/bệnh sử dị ứng của bệnh nhân.
- Số bước làm dự kiến 12-16
- Trước mỗi bước bệnh nhân tăng liều thuốc đều được kiểm tra các chỉ số sinh tồn và các biểu hiện trên lâm sàng.
- Trường hợp bệnh nhân xuất hiện phản ứng nghi ngờ dị ứng trong quá trình thực hiện phải ngừng liệu pháp, cấp cứu. Điều chỉnh phác đồ giảm mẫn cảm theo tình trạng lâm sàng bệnh nhân.
- Kết thúc liệu pháp giảm mẫn cảm bệnh nhân phải dung nạp được với liều điều trị và không có triệu chứng dị ứng xảy ra.

6.2. Nhận định kết quả

Giải mẫn cảm thành công khi bệnh nhân đạt được liều điều trị và dung nạp liều đó cho tới khi hoàn tất quá trình điều trị

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mày đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tư 51/2017/ TT- BYT hướng dẫn phòng chẩn đoán và xử trí phản vệ
2. Castells, M. "Rapid desensitization for hypersensitivity reactions to medications". Immunol Allergy Clin North Am. 2009 Aug;29(3):585-606.
3. Castells, M. C. "Hypersensitivity to antineoplastic agents". Curr Pharm Des. 2008;14(27):2892-901.
4. Kang, Sung-Yoon, Jeongmin Seo, and Hye-Ryun Kang. "Desensitization for the prevention of drug hypersensitivity reactions." The Korean Journal of Internal Medicine 37.2 (2022): 261.
5. Alvarez-Cuesta, Emilio, et al. "Standards for practical intravenous rapid drug desensitization & delabeling: A WAO committee statement." World Allergy Organization Journal 15.6 (2022): 100640.

76. GIẢM MÃN CẢM VỚI THUỐC ĐƯỜNG UỐNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Giảm mẫn cảm với thuốc là phương pháp gây ra sự dung nạp tạm thời đối với thuốc dị ứng bằng cách dùng thuốc tăng dần, bắt đầu từ một lượng rất nhỏ đến đủ liều điều trị. Nó được sử dụng như một chiến lược điều trị cho những bệnh nhân quá mẫn cảm với thuốc khi không có lựa chọn thay thế hoặc thay thế sẽ làm giảm hiệu quả điều trị bệnh.

1.1.2. Nguyên lý

- Với thuốc dị ứng theo cơ chế nhanh, việc nhắc lại từng liều nhỏ và tăng dần dị nguyên là thuốc gây dị ứng và sau mỗi khoảng thời gian cố định dẫn đến thay đổi của các con đường truyền tín hiệu trong tế bào Mast và bạch cầu ái kiềm, và giảm dòng Ca^{2+} . Ngăn chặn sự kích hoạt của tế bào Mast hoặc bạch cầu ái kiềm, tái cấu trúc màng tế bào Mast, ngăn cản sự xâm nhập phức hợp kháng nguyên/IgE/FcεRI và sự hình thành phức hợp kháng nguyên. Điều này dẫn đến ngăn cản sự mất hạt tế bào Mast, bạch cầu ái toan.

- Trong trường hợp dị ứng chậm, việc nhắc lại từng liều nhỏ tăng dần làm suy giảm trí nhớ miễn dịch, gia tăng của CD4+CD25+ hoặc Tế bào T CD4+CD25+FOXP3+ biểu hiện các Cytokine điều hòa chẳng hạn như interleukin 10 (IL-10) và IL-35 sau khi giải mẫn cảm đề xuất vai trò của tế bào T điều tiết, dẫn đến ngăn chặn phản ứng miễn dịch xảy ra trong tế bào.

- Từ hai cơ chế trên, việc dùng thuốc từ từ tăng dần từ liều nhỏ đến liều điều trị sau mỗi khoảng thời gian cố định thông qua cơ chế trên cho phép đưa lại thuốc vào cơ thể một cách an toàn.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Giảm mẫn cảm với thuốc đường uống cho phép đưa lại các loại thuốc dị ứng/nguy cơ dị ứng cao cho bệnh nhân, là những thuốc cần cho liệu pháp điều trị đầu tay, không có thuốc thay thế hoặc nếu thay thế dẫn đến kém kiểm soát bệnh. Giảm mẫn cảm được thực hiện bằng cách dùng liều cực thấp của loại thuốc dị ứng/nguy cơ dị ứng cao, dưới ngưỡng gây ra phản ứng quá mẫn, sau đó tăng liều dần dần vào khoảng thời gian cố định, để cho phép bệnh nhân dung nạp với lượng hoặc nồng độ thuốc nhất định; điều này dẫn đến sự phát triển khả năng dung nạp thuốc tạm thời, cuối cùng là dung nạp được ở liều điều trị cho bệnh nhân

2. CHỈ ĐỊNH

- Bệnh nhân đã có kết quả test lấy da dương tính, hoặc test nội bì dương tính.
- Trường hợp test da (bao gồm cả test lấy da và test nội bì) âm tính, bệnh nhân được tiến hành test kích thích với thuốc cho kết quả dương tính.

- Bệnh nhân đã được tiến hành làm test kích thích với thuốc và cho kết quả dương tính hoặc các bệnh nhân không đủ điều kiện thực hiện test kích thích nhưng qua khai thác tiền sử dị ứng nghi ngờ rất cao là tác nhân gây dị ứng.
- Thuốc được chỉ định làm giảm mẫn cảm phải là thuốc không có thuốc thay thế, hoặc là nếu thay thế thuốc làm giảm hiệu quả điều trị, tức là lợi ích nhiều hơn nguy cơ.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Bệnh phối hợp hoặc bệnh nhân hen phế quản không kiểm soát nhạy cảm với ASA, NSAIDS
- Lợi ích thấp hơn nguy cơ
- Chống chỉ định tuyệt đối với bệnh nhân nhiễm độc da nặng: SJS/TEN, HSS/DRESS

4. THẬN TRỌNG

- Bệnh nhân mắc bệnh tim mạch, hô hấp và những bệnh nhân sử dụng thuốc chẹn beta.
- Đánh giá lợi ích nguy cơ
- Đặt đường truyền tĩnh mạch, thực hiện tại trung tâm có khả năng cấp cứu sốc phản vệ
- Các bác sỹ cần sẵn sàng cấp cứu, dụng cụ và phương tiện hồi sức tim phổi đầy đủ, dễ sử dụng
- Các phác đồ có sẵn cần tính toán phù hợp
- Dùng được cả GMC đường uống và tiêm, chọn GMC đường uống an toàn hơn.
- Xây dựng làm việc theo nhóm, bệnh nhân được hướng dẫn nhận biết phản ứng sớm.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống
- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 µl

- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cối nghiền thuốc (thuốc viên)
- Cốc thủy tinh chia thể tích 50 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 100 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 250 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 500 ml
- Cân tiểu ly
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Dây nối bơm tiêm điện
- Dây truyền
- Kim luồn Catheter
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ

- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh chỉ định, liệu pháp điều trị, sự cần thiết, hiệu quả và các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau khi tiến hành giảm mẫn cảm.
- Người bệnh và người nhà người bệnh đồng ý, chấp nhận nguy cơ và kí vào bản cam kết điều trị.
- Kiểm tra dấu hiệu sinh tồn của bệnh nhân (Mạch, nhiệt độ, huyết áp, SPO₂).
- Người bệnh tự túc thuốc theo chỉ định xét nghiệm
- Bệnh nhân trong tình trạng ổn định (hen được kiểm soát với FEV1 > 70%, bệnh tim mạch đang điều trị thuốc beta blocker...)
- Điều trị bằng thuốc trước giảm mẫn cảm (corticoid, kháng histamine, kháng IgE, kháng leukotriene,...) không thực hiện thường quy, chỉ dùng trong một số trường hợp đặc biệt dựa theo tiền sử dị ứng của bệnh nhân.
- Các phản ứng xảy ra trong quá trình GMC cần cân nhắc thay đổi phác đồ hoặc ngừng điều trị.
- Bệnh nhân tự túc thuốc giảm mẫn cảm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 24 -36 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.
- Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*
- Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Khám bệnh nhân, khai thác kỹ tiền sử, bệnh sử và xây dựng phác đồ giảm mẫn cảm phù hợp với bệnh sử dị ứng của mỗi bệnh nhân.
- Đo mạch, nhiệt độ, huyết áp, SPO₂ và đánh giá toàn trạng cho bệnh nhân trước khi thực hiện
- Bệnh nhân được giải thích về chỉ định, nguy cơ, quy trình làm giảm mẫn cảm và kí cam kết điều trị.
- Pha thuốc: Với các nồng độ 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000 so với nồng độ thuốc pha chuẩn hoặc so với nồng độ thuốc test da dương tính, chia liều theo phác đồ bác sĩ đã xây dựng dựa trên tiền sử, bệnh sử dị ứng của từng bệnh nhân. Dán nhãn cho mỗi ca thủy tinh pha thuốc tương ứng với mỗi nồng độ theo phác đồ.
- Đặt đường truyền tĩnh mạch cho bệnh nhân, lắp máy theo dõi các chỉ số sinh tồn.
- Dùng bơm tiêm lấy thuốc từ các cốc thủy tinh đã pha sẵn thuốc có dán nhãn nồng độ theo phác đồ đã lên sẵn theo từng bước.
- Uống thuốc theo đúng liều trong phác đồ đã xây dựng.
- Khoảng cách thời gian giữa mỗi bước tùy thuộc vào tiền sử/bệnh sử dị ứng của bệnh nhân.
- Số bước làm dự kiến 12-16
- Trước mỗi bước bệnh nhân tăng liều thuốc đều được kiểm tra các chỉ số sinh tồn và các biểu hiện trên lâm sàng.
- Trường hợp bệnh nhân xuất hiện phản ứng nghi ngờ dị ứng trong quá trình thực hiện phải ngừng liệu pháp, cấp cứu. Điều chỉnh phác đồ giảm mẫn cảm theo tình trạng lâm sàng bệnh nhân.
- Kết thúc liệu pháp giảm mẫn cảm bệnh nhân phải dung nạp được với liều điều trị và không có triệu chứng dị ứng xảy ra.

6.2. Nhận định kết quả

Giải mẫn cảm thành công khi bệnh nhân đạt được liều điều trị và dung nạp liều đó cho tới khi hoàn tất quá trình điều trị

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mày đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tư 51/2017/ TT- BYT hướng dẫn phòng chẩn đoán và xử trí phản vệ
2. Castells, M. "Rapid desensitization for hypersensitivity reactions to medications". *Immunol Allergy Clin North Am*. 2009 Aug;29(3):585-606.
3. Castells, M. C. "Hypersensitivity to antineoplastic agents". *Curr Pharm Des*. 2008;14(27):2892-901.
4. Kang, Sung-Yoon, Jeongmin Seo, and Hye-Ryun Kang. "Desensitization for the prevention of drug hypersensitivity reactions." *The Korean Journal of Internal Medicine* 37.2 (2022): 261.

77. GIẢM MẮN CẢM VỚI SỮA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Giảm miễn cảm với sữa, còn được gọi là cảm ứng dung nạp đường miệng là một phương pháp điều trị bao gồm việc cho bệnh nhân sử dụng một lượng rất nhỏ nhưng tăng dần lượng sữa mà bệnh nhân bị dị ứng, kết quả đạt được sự dung nạp với sữa đã từng dị ứng.

1.2.2. Nguyên lý

Giải miễn cảm cho nhắc lại từng liều nhỏ và tăng dần dị nguyên là sữa gây dị ứng và sau mỗi khoảng thời gian cố định tiếp xúc với chất dị ứng ở liều lượng không gây phản ứng sẽ thúc đẩy sản xuất kháng thể IgG4 đặc hiệu trong thực phẩm và làm giảm IgE đặc hiệu trong thực phẩm. Điều này dần dần tạo ra sự cân bằng theo hướng dung nạp hơn là dị ứng.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Giảm miễn cảm với sữa để tăng khả năng dung nạp với chất gây dị ứng trong sữa để có thể sử dụng lượng lớn hơn mà không gây ra bất kỳ triệu chứng nào và kết quả là sữa có chứa chất gây dị ứng có thể được sử dụng một cách an toàn hoặc ít nhất là vô tình tiếp xúc với một lượng nhỏ chúng sẽ không gây ra phản ứng dị ứng.

2. CHỈ ĐỊNH

- Bệnh nhân đã có kết quả test lấy da dương tính, hoặc test nội bì dương tính.
- Trường hợp test da (bao gồm cả test lấy da và test nội bì) âm tính, bệnh nhân được tiến hành test kích thích với sữa cho kết quả dương tính.
- Bệnh nhân đã được tiến hành làm test kích thích với sữa và cho kết quả dương tính hoặc các bệnh nhân không đủ điều kiện thực hiện test kích thích nhưng qua khai thác tiền sử dị ứng nghi ngờ rất cao là tác nhân gây dị ứng.
- Sữa được chỉ định làm giảm miễn cảm phải không có sữa thay thế, tức là lợi ích nhiều hơn nguy cơ.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Bệnh phối hợp hoặc bệnh nhân hen phế quản không kiểm soát nhạy cảm với ASA, NSAIDS
- Lợi ích thấp hơn nguy cơ
- Chống chỉ định tuyệt đối với bệnh nhân nhiễm độc da nặng: SJS/TEN, HSS/DRESS

4. THẬN TRỌNG

- Bệnh nhân mắc bệnh tim mạch, hô hấp và những bệnh nhân sử dụng thuốc chẹn beta.
- Đánh giá lợi ích nguy cơ

- Đặt đường truyền tĩnh mạch, thực hiện tại trung tâm có khả năng cấp cứu sốc phản vệ
- Các bác sỹ cần sẵn sàng cấp cứu, dụng cụ và phương tiện hồi sức tim phổi đầy đủ, dễ sử dụng
- Các phác đồ có sẵn cần tính toán phù hợp
- Xây dựng làm việc theo nhóm, bệnh nhân được hướng dẫn nhận biết phản ứng sớm.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolone 40mg
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10mg
- Sữa được chỉ định xét nghiệm (BN tự túc)
- Natriclorid 0,9% 500ml

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 µl
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cốc thủy tinh chia thể tích 50 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 100 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 250 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 500 ml
- Bơm tiêm điện
- Cân tiểu ly
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa

- Dây nối bơm tiêm điện
- Dây truyền
- Kim luồn Catheter
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh chỉ định, liệu pháp điều trị, sự cần thiết, hiệu quả và các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau khi tiến hành giảm mẫn cảm.
- Người bệnh và người nhà người bệnh đồng ý, chấp nhận nguy cơ và kí vào bản cam kết điều trị.
- Kiểm tra dấu hiệu sinh tồn của bệnh nhân (Mạch, nhiệt độ, huyết áp, SPO₂).
- Người bệnh tự túc thuốc theo chỉ định xét nghiệm
- Bệnh nhân trong tình trạng ổn định (hen được kiểm soát với FEV1 > 70%, bệnh tim mạch đang điều trị thuốc beta blocker...)
- Điều trị bằng thuốc trước giảm mẫn cảm (corticoid, kháng histamine, kháng IgE, kháng leukotriene,...) không thực hiện thường quy, chỉ dùng trong một số trường hợp đặc biệt dựa theo tiền sử dị ứng của bệnh nhân.
- Các phản ứng xảy ra trong quá trình GMC cần cân nhắc thay đổi phác đồ hoặc ngừng điều trị.
- Bệnh nhân tự túc thuốc giảm mẫn cảm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 24 -36 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện xét nghiệm

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Khám bệnh nhân, và xây dựng phác đồ giảm mẫn cảm phù hợp với bệnh sử dị ứng của mỗi bệnh nhân.
- Đo mạch, nhiệt độ, huyết áp, SPO₂ và đánh giá toàn trạng cho bệnh nhân trước khi thực hiện
- Bệnh nhân được giải thích về chỉ định, nguy cơ, quy trình làm giảm mẫn cảm và kí cam kết điều trị
- Pha sữa: Với các nồng độ 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000 so với nồng độ thuốc pha chuẩn hoặc nồng độ cho test da dương tính, theo phác đồ bác sỹ đã xây dựng dựa trên tiền sử dị ứng của từng bệnh nhân. Dán nhãn cho mỗi chai tương ứng với mỗi nồng độ.
- Đặt đường truyền tĩnh mạch cho bệnh nhân, lắp máy theo dõi các chỉ số sinh tồn.
- Dùng cốc lấy sữa từ chai đã pha, điều chỉnh liều thuốc theo phác đồ đã xây dựng.

- Thời gian mỗi bước tùy thuộc vào bệnh nhân.
- Số bước làm dự kiến 12-16
- Trong mỗi bước bệnh nhân uống sữa đều được kiểm tra các chỉ số sinh tồn và các biểu hiện trên lâm sàng
- Trường hợp bệnh nhân xuất hiện phản ứng trong quá trình thực hiện phải ngừng liệu pháp, cấp cứu. Điều chỉnh phác đồ giảm mẫn cảm theo tình trạng lâm sàng bệnh nhân.
- Kết thúc liệu pháp giảm mẫn cảm bệnh nhân phải dung nạp được với liều điều trị.

6.2. Nhận định kết quả

Giải mẫn cảm thành công khi bệnh nhân sử dụng được sữa đó và dung nạp được sữa đó cho tới khi hoàn tất quá trình điều trị

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mề đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Peters, Rachel L., et al. "Update on food allergy." *Pediatric Allergy and Immunology* 32.4 (2021): 647-657.
2. Sampson, Hugh A., et al. "Food allergy: a practice parameter update—2014." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 134.5 (2014): 1016-1025.
3. Burks AW, Laubach S, Jones SM. Oral tolerance, food allergy, and immunotherapy: implications for future treatment. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(6):1344-1350.

78. GIẢM MÃN CẢM VỚI THỨC ĂN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Giảm mẫn cảm với thức ăn, còn được gọi là cảm ứng dung nạp đường miệng là một phương pháp điều trị bao gồm việc cho bệnh nhân ăn một lượng rất nhỏ nhưng tăng dần lượng thức ăn mà bệnh nhân bị dị ứng, kết quả đạt được sự dung nạp với thức ăn đã từng dị ứng.

1.2.2. Nguyên lý

Giải mẫn cảm cho nhắc lại từng liều nhỏ và tăng dần dị nguyên là thức ăn gây dị ứng và sau mỗi khoảng thời gian cố định tiếp xúc với chất dị ứng ở liều lượng không gây phản ứng sẽ thúc đẩy sản xuất kháng thể IgG4 đặc hiệu trong thực phẩm và làm giảm IgE đặc hiệu trong thực phẩm. Điều này dần dần tạo ra sự cân bằng theo hướng dung nạp hơn là dị ứng.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Giảm mẫn cảm với thức ăn để tăng khả năng dung nạp với chất gây dị ứng trong thức ăn để có thể sử dụng lượng lớn hơn mà không gây ra bất kỳ triệu chứng nào và kết quả là thức ăn có chứa chất gây dị ứng có thể được ăn một cách an toàn hoặc ít nhất là vô tình tiếp xúc với một lượng nhỏ chúng sẽ không gây ra phản ứng dị ứng.

2. CHỈ ĐỊNH

- Bệnh nhân đã có kết quả test lấy da dương tính, hoặc test nội bì dương tính với dị nguyên thức ăn.
- Trường hợp test da (bao gồm cả test lấy da và test nội bì) âm tính, bệnh nhân được tiến hành test kích thích với thức ăn cho kết quả dương tính.
- Bệnh nhân đã được tiến hành làm test kích thích với thức ăn và cho kết quả dương tính hoặc các bệnh nhân không đủ điều kiện thực hiện test kích thích nhưng qua khai thác tiền sử dị ứng nghi ngờ rất cao thức ăn là tác nhân gây dị ứng.
- Thức ăn được chỉ định làm giảm mẫn cảm phải có lợi ích nhiều hơn nguy cơ.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Bệnh phối hợp hoặc bệnh nhân hen phế quản không kiểm soát nhạy cảm với ASA, NSAIDS
- Lợi ích thấp hơn nguy cơ
- Chống chỉ định tuyệt đối với bệnh nhân nhiễm độc da nặng: SJS/TEN, HSS/DRESS

4. THẬN TRỌNG

- Bệnh nhân mắc bệnh tim mạch, hô hấp và những bệnh nhân sử dụng thuốc chẹn beta.
- Đánh giá lợi ích nguy cơ

- Đặt đường truyền tĩnh mạch, thực hiện tại trung tâm có khả năng cấp cứu sốc phản vệ
- Các bác sỹ cần sẵn sàng cấp cứu, dụng cụ và phương tiện hồi sức tim phổi đầy đủ, dễ sử dụng
- Các phác đồ có sẵn cần tính toán phù hợp
- Xây dựng làm việc theo nhóm, bệnh nhân được hướng dẫn nhận biết phản ứng sớm.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolone 40mg
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10mg
- Sữa được chỉ định xét nghiệm (BN tự túc)
- Natriclorid 0,9% 500ml

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 µl
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cốc thủy tinh chia thể tích 50 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 100 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 250 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 500 ml
- Bơm tiêm điện
- Cân tiểu ly
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa

- Dây nối bơm tiêm điện
- Dây truyền
- Kim luồn Catheter
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh chỉ định, liệu pháp điều trị, sự cần thiết, hiệu quả và các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau khi tiến hành giảm mẫn cảm.
- Người bệnh và người nhà người bệnh đồng ý, chấp nhận nguy cơ và kí vào bản cam kết điều trị.
- Kiểm tra dấu hiệu sinh tồn của bệnh nhân (Mạch, nhiệt độ, huyết áp, SPO₂).
- Người bệnh tự túc thức ăn theo chỉ định xét nghiệm
- Bệnh nhân trong tình trạng ổn định (hen được kiểm soát với FEV1 > 70%, bệnh tim mạch đang điều trị thuốc beta blocker...)
- Điều trị bằng thuốc trước giảm mẫn cảm (corticoid, kháng histamine, kháng IgE, kháng leukotriene,...) không thực hiện thường quy, chỉ dùng trong một số trường hợp đặc biệt dựa theo tiền sử dị ứng của bệnh nhân.
- Các phản ứng xảy ra trong quá trình GMC cần cân nhắc thay đổi phác đồ hoặc ngừng điều trị.
- Bệnh nhân tự túc thuốc giảm mẫn cảm.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 24 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Khám bệnh nhân và xây dựng phác đồ giảm mẫn cảm phù hợp với bệnh sử dị ứng của mỗi bệnh nhân.
- Đo mạch, nhiệt độ, huyết áp, SPO₂ và đánh giá toàn trạng cho bệnh nhân trước khi thực hiện
- Bệnh nhân được giải thích về chỉ định, nguy cơ, quy trình làm giảm mẫn cảm và kí cam kết điều trị
- Pha dị nguyên thức ăn: Với các nồng độ 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000 so với nồng độ dị nguyên thức ăn pha chuẩn hoặc nồng độ cho test da dương tính, theo phác đồ bác sỹ đã xây dựng dựa trên tiền sử dị ứng của từng bệnh nhân. Dán nhãn cho mỗi chai tương ứng với mỗi nồng độ.
- Đặt đường truyền tĩnh mạch cho bệnh nhân, lắp máy theo dõi các chỉ số sinh tồn.

- Dùng cốc lấy dị nguyên thức ăn từ chai đã pha, điều chỉnh liều theo phác đồ đã xây dựng.
- Thời gian mỗi bước tùy thuộc vào bệnh nhân.
- Số bước làm dự kiến 12-16
- Trong mỗi bước bệnh nhân dùng dị nguyên thức ăn đều được kiểm tra các chỉ số sinh tồn và các biểu hiện trên lâm sàng
- Trường hợp bệnh nhân xuất hiện phản ứng trong quá trình thực hiện phải ngừng liệu pháp, cấp cứu. Điều chỉnh phác đồ giảm mẫn cảm theo tình trạng lâm sàng bệnh nhân.
- Kết thúc liệu pháp giảm mẫn cảm bệnh nhân phải dung nạp được với liều điều trị.

6.2. Nhận định kết quả

Giải mẫn cảm thành công khi bệnh nhân sử dụng được thức ăn đó và dung nạp được thức ăn cho tới khi hoàn tất quá trình điều trị

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mề đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Peters, Rachel L., et al. "Update on food allergy." *Pediatric Allergy and Immunology* 32.4 (2021): 647-657.
2. Sampson, Hugh A., et al. "Food allergy: a practice parameter update—2014." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 134.5 (2014): 1016-1025.

3. Burks AW, Laubach S, Jones SM. Oral tolerance, food allergy, and immunotherapy: implications for future treatment. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(6):1344-1350.

79. TEST KÍCH THÍCH VỚI THUỐC ĐƯỜNG TĨNH MẠCH

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Test kích thích là tiêu chuẩn vàng được sử dụng để xác định loại thuốc gây ra phản ứng quá mẫn (DHR), nó thường được thực hiện như là bước cuối trong tiếp cận chẩn đoán dị ứng thuốc sau xét nghiệm in vitro và xét nghiệm da..

1.2.2. Nguyên lý

Tái hiện lại phản ứng dị ứng bằng cách dùng lại thuốc nghi ngờ dị ứng theo từng liều tăng dần sau khoảng thời gian cố định.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Tạo lại phản ứng dị ứng nhằm khẳng định chính xác thuốc gây ra phản ứng dị ứng mà trước đó test da cho kết quả âm tính, bệnh nhân không tiến hành được test da hoặc không loại trừ được thuốc nghi ngờ dị ứng. Ngoài mục đích chính là xác định thuốc gây phản ứng quá mẫn, nó cũng được sử dụng để chứng minh sự dung nạp với một loại thuốc thay thế

2. CHỈ ĐỊNH

- Loại trừ phản ứng dị ứng do thuốc trong các trường hợp tiền sử không rõ ràng.
- Loại trừ các trường hợp phản ứng chéo trong cùng nhóm thuốc khi một thuốc trong thuốc đó đã được chẩn đoán là tác nhân dị ứng.
- Khẳng định chính xác thuốc gây ra phản ứng dị ứng trước đó khi các test da có kết quả âm tính hoặc không loại trừ được.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Phụ nữ có thai
- Bệnh phối hợp hoặc bệnh nhân hen không kiểm soát, suy tim, suy thận.
- Bệnh nhân có tiền sử phản ứng gây độc tế bào, viêm mạch, viêm da bong vảy, hồng ban đa dạng/ hội chứng Stevens - Johnson, hội chứng quá mẫn (DIHS/DRESS) và hoại tử thượng bì nhiễm độc.

4. THẬN TRỌNG

- Bệnh nhân mắc bệnh tim mạch, hô hấp và những bệnh nhân sử dụng thuốc chẹn beta.
- Chỉ được tiến hành khi cả test lấy da, test nội bì âm tính, nhưng tiền sử vẫn nghi ngờ dị ứng (với điều kiện phản ứng trước đó nhẹ, trung bình) hoặc khi test da âm tính và cần xác định sự dung nạp của thuốc nghi ngờ có phản ứng chéo với thuốc trong tiền sử.
- Đặt đường truyền tĩnh mạch, thực hiện tại trung tâm có khả năng cấp cứu sốc phản vệ

- Các bác sỹ cần sẵn sàng cấp cứu, dụng cụ và phương tiện hồi sức tim phổi đầy đủ, dễ sử dụng
- Các phác đồ có sẵn cần tính toán phù hợp
- Xây dựng làm việc theo nhóm, bệnh nhân được hướng dẫn nhận biết phản ứng sớm.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolone 40mg
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10mg
- Thuốc được chỉ định xét nghiệm (BN tự túc)
- Natriclorid 0,9% 500ml
- Chứng Âm tính (Negative control - Natriclorua 0.9%)
- Chứng Dương tính (Positive control - Histamine phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%)

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 µl
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cốc đong (ml)
- Bơm tiêm điện
- Cân tiểu ly
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 50ml
- Bơm tiêm nhựa 20ml
- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml

- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Dây nối bơm tiêm điện
- Dây truyền
- Kim luồn Catheter
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh về chỉ định xét nghiệm, sự cần thiết và các nguy cơ có thể xảy ra khi tiến hành test kích thích
- Người bệnh đồng ý, chấp nhận nguy cơ và kí vào bản cam kết thủ thuật
- Khai thác tiền sử, bệnh sử dị ứng của bệnh nhân để đưa ra phác đồ test kích thích phù hợp với bệnh nhân. Khai thác các thuốc bệnh nhân đang dùng để phát hiện ra những thuốc có thể ảnh hưởng đến kết quả test kích thích (kháng Histamin, Corticoid, ức chế miễn dịch, kháng IgE), thuốc khác (thuốc chẹn beta).
- Kiểm tra dấu hiệu sinh tồn của bệnh nhân (Mạch, huyết áp, SPO₂), đánh giá toàn trạng bệnh nhân trước khi tiến hành làm test kích thích

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 24 -72 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.
- Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*
- Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Khám bệnh nhân và xây dựng phác đồ test kích thích phù hợp với bệnh sử dị ứng của mỗi bệnh nhân.
- Giải thích cho bệnh nhân, người nhà bệnh nhân về chỉ định, nguy cơ khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Bệnh nhân đồng ý làm xét nghiệm, kí cam kết làm xét nghiệm.
- Pha thuốc: Với các nồng độ, chia các liều theo phác đồ bác sỹ đã xây dựng dựa trên tiền sử dị ứng của từng bệnh nhân. Dán nhãn cho mỗi chai tương ứng với mỗi nồng độ.
- Đo mạch, huyết áp, SPO₂ cho bệnh nhân trước khi thực hiện
- Đặt đường truyền tĩnh mạch cho bệnh nhân, lắp máy theo dõi các chỉ số sinh tồn.
- Dùng bơm tiêm lấy thuốc từ các chai Natriclorua 0,9% có dán nhãn nồng độ vào bơm 50ml.
- Điều chỉnh liều thuốc trên máy bơm tiêm điện để đạt được liều theo phác đồ đã xây dựng.
- Thời gian mỗi bước tùy thuộc vào bệnh nhân.
- Số bước làm dự kiến 3-6
- Trong mỗi bước tăng liều thuốc, bệnh nhân đều được kiểm tra các chỉ số sinh tồn và các biểu hiện trên lâm sàng.

- Trường hợp bệnh nhân xuất hiện phản ứng thì dừng lại và kết luận

6.2. Nhận định kết quả

- Test kích thích được coi là dương tính khi các triệu chứng từ phản ứng ban đầu được tái hiện hoặc các triệu chứng rõ ràng khác xuất hiện trong quá trình test kích thích.
- Tiến hành cấp cứu ngay khi xuất hiện phản ứng dị ứng.
- Phản ứng âm tính khi kết thúc liệu điều trị bệnh nhân không xuất hiện phản ứng

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mào ngứa, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rerkpattanapipat T, Chiriac AM, Demoly P. Drug provocation tests in hypersensitivity drug reactions. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011;11:299-304
2. DAMADOĞLU, EBRU, et al. "A practical method of drug provocation testing to prove tolerance to alternative drugs in drug hypersensitivity." *Turkish Journal of Medical Sciences* 51.2 (2021): 604-609.
3. Demoly P, Romano A, Botelho C, Bousquet-Rouanet L, Gaeta F, Silva R, Rumi G, Rodrigues Cernadas J, Bousquet PJ. Determining the negative predictive value of provocation tests with beta-lactams. *Allergy*. 2010;65:327-332
4. Khan, David A., et al. "Drug allergy: a 2022 practice parameter update." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 150.6 (2022): 1333-1393

5. Kang, Sung-Yoon, Jeongmin Seo, and Hye-Ryun Kang. "Desensitization for the prevention of drug hypersensitivity reactions." *The Korean Journal of Internal Medicine* 37.2 (2022): 261.
6. Soyer O, Sahiner UM, Sekerel BE. Pro and Contra: Provocation Tests in Drug Hypersensitivity. *Int J Mol Sci*. 2017 Jul 4;18(7):1437.

80. TEST KÍCH THÍCH VỚI THUỐC ĐƯỜNG UÔNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Test kích thích là tiêu chuẩn vàng được sử dụng để xác định loại thuốc gây ra phản ứng quá mẫn (DHR), nó thường được thực hiện như là bước cuối trong tiếp cận chẩn đoán dị ứng thuốc sau xét nghiệm in vitro và xét nghiệm da.

1.1.2. Nguyên lý

Tái hiện lại phản ứng dị ứng bằng cách dùng lại thuốc nghi ngờ dị ứng theo từng liều tăng dần sau khoảng thời gian cố định

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Tạo lại phản ứng dị ứng nhằm khẳng định chính xác thuốc gây ra phản ứng dị ứng mà trước đó test da cho kết quả âm tính, bệnh nhân không tiến hành được test da hoặc không loại trừ được thuốc nghi ngờ dị ứng. Ngoài mục đích chính là xác định thuốc gây phản ứng quá mẫn, nó cũng được sử dụng để chứng minh sự dung nạp với một loại thuốc thay thế

2. CHỈ ĐỊNH

- Loại trừ phản ứng dị ứng do thuốc trong các trường hợp tiền sử không rõ ràng.
- Loại trừ các trường hợp phản ứng chéo trong cùng nhóm thuốc khi một thuốc trong thuốc đó đã được chẩn đoán là tác nhân dị ứng.
- Khẳng định chính xác thuốc gây ra phản ứng dị ứng trước đó khi các test da có kết quả âm tính hoặc không loại trừ được.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Phụ nữ có thai
- Bệnh phối hợp hoặc bệnh nhân hen không kiểm soát, suy tim, suy thận.
- Bệnh nhân có tiền sử phản ứng gây độc tế bào, viêm mạch, viêm da bong vảy, hồng ban đa dạng/ hội chứng Stevens - Johnson, hội chứng quá mẫn (DIHS/DRESS) và hoại tử thượng bì nhiễm độc.

4. THẬN TRỌNG

- Bệnh nhân mắc bệnh tim mạch, hô hấp và những bệnh nhân sử dụng thuốc chẹn beta.
- Chỉ được tiến hành khi cả test lấy da, test nội bì âm tính, nhưng tiền sử vẫn nghi ngờ dị ứng (với điều kiện phản ứng trước đó nhẹ, trung bình) hoặc khi test da âm tính và cần xác định sự dung nạp của thuốc nghi ngờ có phản ứng chéo với thuốc trong tiền sử.
- Đặt đường truyền tĩnh mạch, thực hiện tại trung tâm có khả năng cấp cứu sốc phản vệ

- Các bác sỹ cần sẵn sàng cấp cứu, dụng cụ và phương tiện hồi sức tim phổi đầy đủ, dễ sử dụng
- Các phác đồ có sẵn cần tính toán phù hợp
- Xây dựng làm việc theo nhóm, bệnh nhân được hướng dẫn nhận biết phản ứng sớm.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolone 40mg
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10mg
- Thuốc được chỉ định xét nghiệm (BN tự túc)
- Natriclorid 0,9% 100ml
- Natriclorid 0,9% 500ml
- Chứng Âm tính (Negative control - Natriclorua 0.9%)
- Chứng Dương tính (Positive control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%)

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Pipet 2-20 µl
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cối nghiền thuốc (thuốc viên)
- Cốc thủy tinh chia thể tích 50 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 100 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 250 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 500 ml
- Bơm tiêm điện
- Cân tiểu ly

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 10ml

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Dây nối bơm tiêm điện
- Dây truyền
- Kim luồn Catheter
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm

- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh về chỉ định xét nghiệm, sự cần thiết và các nguy cơ có thể xảy ra khi tiến hành test kích thích
- Người bệnh đồng ý, chấp nhận nguy cơ và kí vào bản cam kết thủ thuật
- Khai thác tiền sử, bệnh sử dị ứng của bệnh nhân để đưa ra phác đồ test kích thích phù hợp với bệnh nhân. Khai thác các thuốc bệnh nhân đang dùng để phát hiện ra những thuốc có thể ảnh hưởng đến kết quả test kích thích (kháng Histamin, Corticoid, ức chế miễn dịch, kháng IgE), thuốc khác (thuốc chẹn beta).
- Kiểm tra dấu hiệu sinh tồn của bệnh nhân (Mạch, huyết áp, SPO₂), đánh giá toàn trạng bệnh nhân trước khi tiến hành làm test kích thích

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 24 -36 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện xét nghiệm

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Khám bệnh nhân và xây dựng phác đồ phù hợp với bệnh sử dị ứng của mỗi bệnh nhân.
- Giải thích cho bệnh nhân, người nhà bệnh nhân về chỉ định, nguy cơ khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Bệnh nhân đồng ý làm xét nghiệm, kí cam kết làm xét nghiệm.
- Pha thuốc: Với các nồng độ, chia các liều theo phác đồ bác sỹ đã xây dựng dựa trên tiền sử dị ứng của từng bệnh nhân. Dán nhãn cho mỗi chai tương ứng với mỗi nồng độ.
- Đo mạch, huyết áp, SPO₂ cho bệnh nhân trước khi thực hiện
- Đặt đường truyền tĩnh mạch cho bệnh nhân, lắp máy theo dõi các chỉ số sinh tồn.
- Dùng bơm tiêm lấy thuốc từ ca thủy tinh đã chia vạch, có dán nhãn nồng độ vào cốc thủy tinh. Liều lượng mỗi lần lấy theo phác đồ đã xây dựng dựa trên tiền sử, bệnh sử của bệnh nhân.
- Thời gian mỗi bước tùy thuộc vào bệnh nhân.
- Số bước làm dự kiến 3-6

- Trong mỗi bước tăng liều thuốc, bệnh nhân đều được kiểm tra các chỉ số sinh tồn và các biểu hiện trên lâm sàng.
- Trường hợp bệnh nhân xuất hiện phản ứng thì dừng lại và kết luận

6.2. Nhận định kết quả

- Test kích thích được coi là dương tính khi các triệu chứng từ phản ứng ban đầu được tái hiện hoặc các triệu chứng rõ ràng khác xuất hiện trong quá trình test kích thích.
- Tiến hành cấp cứu ngay khi xuất hiện phản ứng dị ứng.
- Phản ứng âm tính khi kết thúc liều điều trị bệnh nhân không xuất hiện phản ứng

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mào ngứa, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thông tư 51/2017/ TT- BYT hướng dẫn phòng chẩn đoán và xử trí phản vệ.
2. Rerkpattanapipat T, Chiriac AM, Demoly P. Drug provocation tests in hypersensitivity drug reactions. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011; 11:299-304
3. DAMADOĞLU, EBRU, et al. "A practical method of drug provocation testing to prove tolerance to alternative drugs indrug hypersensitivity." *Turkish Journal of Medical Sciences* 51.2 (2021): 604-609.
4. Demoly P, Romano A, Botelho C, Bousquet-Rouanet L, Gaeta F, Silva R, Rumi G, Rodrigues Cernadas J, Bousquet PJ. Determining the negative predictive value of provocation tests with beta-lactams. *Allergy*. 2010;65:327-332.

5. Soyer O, Sahiner UM, Sekerel BE. Pro and Contra: Provocation Tests in Drug Hypersensitivity. *Int J Mol Sci*. 2017 Jul 4;18(7):1437.
6. Khan, David A., et al. "Drug allergy: a 2022 practice parameter update." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 150.6 (2022): 1333-1393.
7. Hjortlund J, Mortz CG, Skov PS, Eller E, Poulsen JM, Borch JE, Bindslev-Jensen C. One-week oral challenge with penicillin in diagnosis of penicillin allergy. *Acta Derm Venereol*. 2012;92:307-312.

81. TEST KÍCH THÍCH VỚI SỮA

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Test kích thích với sữa là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán dị ứng sữa, bằng cách dùng lại sữa với liều có kiểm soát sau những khoảng thời gian nhất định để chẩn đoán phản ứng quá mẫn với sữa.

1.1.2. Nguyên lý

Sử dụng liều sữa nhỏ sau mỗi khoảng thời gian xác định để đánh giá sự xuất hiện lại các triệu chứng dị ứng

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Tạo lại phản ứng dị ứng nhằm khẳng định chính xác loại sữa gây ra phản ứng dị ứng. Ngoài ra test kích thích cũng là phương pháp xác định sự dung nạp của loại sữa thay thế

2. CHỈ ĐỊNH

- Loại trừ phản ứng dị ứng do sữa trong các trường hợp tiền sử không rõ ràng.
- Khẳng định chính xác sữa gây ra phản ứng dị ứng trước đó khi các test da có kết quả âm tính hoặc không loại trừ được.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Phụ nữ có thai
- Bệnh phổi hợp hoặc bệnh nhân hen không kiểm soát, suy tim, suy thận.
- Bệnh nhân có tiền sử phản ứng gây độc tế bào, viêm mạch, viêm da bong vảy, hồng ban đa dạng/ hội chứng Stevens - Johnson, hội chứng quá mẫn (DIHS/DRESS) và hoại tử thượng bì nhiễm độc.

4. THẬN TRỌNG

- Bệnh nhân mắc bệnh tim mạch, hô hấp và những bệnh nhân sử dụng thuốc chẹn beta.
- Chỉ được tiến hành khi cả test lấy da, test nội bì âm tính, nhưng tiền sử vẫn nghi ngờ dị ứng (với điều kiện phản ứng trước đó nhẹ, trung bình).
- Đặt đường truyền tĩnh mạch, thực hiện tại trung tâm có khả năng cấp cứu sốc phản vệ
- Các bác sỹ cần sẵn sàng cấp cứu, dụng cụ và phương tiện hồi sức tim phổi đầy đủ, dễ sử dụng
- Các phác đồ có sẵn cần tính toán phù hợp
- Xây dựng làm việc theo nhóm, bệnh nhân được hướng dẫn nhận biết phản ứng sớm.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolone 40mg
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10mg
- Sữa được chỉ định xét nghiệm (BN tự túc)
- Natriclorid 0,9% 100ml
- Natriclorid 0,9% 500ml
- Chứng Âm tính (Negative control - Natriclorua 0.9%)
- Chứng Dương tính (Positive control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%)

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Pipet 2-20 μ l
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cốc thủy tinh chia thể tích 50 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 100 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 250 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 500 ml
- Cân tiểu ly

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Dây nối bơm tiêm điện
- Dây truyền

- Kim luồn Catheter
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót độc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh về chỉ định xét nghiệm, sự cần thiết và các nguy cơ có thể xảy ra khi tiến hành test kích thích
- Người bệnh đồng ý, chấp nhận nguy cơ và kí vào bản cam kết thủ thuật

- Khai thác tiền sử, bệnh sử dị ứng của bệnh nhân để đưa ra phác đồ test kích thích phù hợp với bệnh nhân. Khai thác các thuốc bệnh nhân đang dùng để phát hiện ra những thuốc có thể ảnh hưởng đến kết quả test kích thích (kháng Histamin, Corticoid, ức chế miễn dịch, kháng IgE), thuốc khác (thuốc chẹn beta).
- Kiểm tra dấu hiệu sinh tồn của bệnh nhân (Mạch, huyết áp, SPO₂), đánh giá toàn trạng bệnh nhân trước khi tiến hành làm test kích thích

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 24 -36 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. Kiểm tra người bệnh: Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật

c. Tư thế bệnh nhân: Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Khám bệnh nhân và xây dựng phác đồ phù hợp với bệnh sử dị ứng của mỗi bệnh nhân.
- Giải thích cho bệnh nhân, người nhà bệnh nhân về chỉ định, nguy cơ khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Bệnh nhân đồng ý làm xét nghiệm, kí cam kết làm xét nghiệm.
- Pha sữa: Với các nồng độ, chia các liều theo phác đồ bác sĩ đã xây dựng dựa trên tiền sử dị ứng của từng bệnh nhân. Dán nhãn cho mỗi chai tương ứng với mỗi nồng độ.
- Đo mạch, huyết áp, SPO₂ cho bệnh nhân trước khi thực hiện
- Đặt đường truyền tĩnh mạch cho bệnh nhân, lắp máy theo dõi các chỉ số sinh tồn.
- Dùng bơm tiêm lấy sữa từ ca thủy tinh đã chia vạch, có dán nhãn nồng độ vào cốc thủy tinh. Liều lượng mỗi lần lấy theo phác đồ đã xây dựng dựa trên tiền sử, bệnh sử của bệnh nhân.
- Thời gian mỗi bước tùy thuộc vào bệnh nhân.
- Số bước làm dự kiến 3-6
- Trong mỗi bước tăng liều thuốc, bệnh nhân đều được kiểm tra các chỉ số sinh tồn và các biểu hiện trên lâm sàng.
- Trường hợp bệnh nhân xuất hiện phản ứng thì dừng lại và kết luận

6.2. Nhận định kết quả

- Test kích thích được coi là dương tính khi các triệu chứng từ phản ứng ban đầu được tái hiện hoặc các triệu chứng rõ ràng khác xuất hiện trong quá trình test kích thích.

- Tiến hành cấp cứu ngay khi xuất hiện phản ứng dị ứng.
- Phản ứng âm tính khi kết thúc liệu điều trị bệnh nhân không xuất hiện phản ứng

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mào đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lazare FB, Brand DA, Marciano TA, Daum F. Rapid resolution of milk protein intolerance in infancy. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014 Aug;59(2):215-7.
2. Spergel JM, Beausoleil JL, Fiedler JM, Ginsberg J, Wagner K, Pawlowski NA. Correlation of initial food reactions to observed reactions on challenges. Ann Allergy Asthma Immunol. 2004 Feb;92(2):217-24.
3. Díaz MC, Lavrut AJ, Slullitel P, Souza MV. Usefulness of analytic tests for the diagnosis of cow's milk protein allergy. Arch Argent Pediatr. 2022 Feb;120(1):21-29.
4. Calvani, Mauro, et al. "Oral food challenge: safety, adherence to guidelines and predictive value of skin prick testing." Pediatric allergy and immunology 23.8 (2012): 754-760.
5. Ahrens B, Lopes de Oliveira LC, Grabenhenrich L, Schulz G, Niggemann B, Wahn U, Beyer K. Individual cow's milk allergens as prognostic markers for tolerance development? Clin Exp Allergy. 2012 Nov;42(11):1630-7.

82. TEST KÍCH THÍCH VỚI THỨC ĂN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Test kích thích với thức ăn là dùng lại thức ăn nghi ngờ với liều có kiểm soát để chẩn đoán phản ứng quá mẫn với thức ăn.

1.1.2. Nguyên lý

Sử dụng lượng thức ăn nhỏ sau mỗi khoảng thời gian xác định để đánh giá sự xuất hiện lại các triệu chứng dị ứng

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Tạo lại phản ứng dị ứng nhằm khẳng định chính xác thức ăn gây ra phản ứng dị ứng mà trước đó test da cho kết quả âm tính, không tiến hành được test da, không loại trừ được thức ăn nghi ngờ dị ứng

2. CHỈ ĐỊNH

- Loại trừ phản ứng dị ứng do thức ăn trong các trường hợp tiền sử không rõ ràng.
- Khẳng định chính xác thức ăn gây ra phản ứng dị ứng trước đó khi các test da có kết quả âm tính hoặc không loại trừ được.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Phụ nữ có thai
- Bệnh phối hợp hoặc bệnh nhân hen không kiểm soát, suy tim, suy thận.
- Bệnh nhân có tiền sử phản ứng gây độc tế bào, viêm mạch, viêm da bong vảy, hồng ban đa dạng/ hội chứng Stevens - Johnson, hội chứng quá mẫn (DIHS/DRESS) và hoại tử thượng bì nhiễm độc.

4. THẬN TRỌNG

- Bệnh nhân mắc bệnh tim mạch, hô hấp và những bệnh nhân sử dụng thuốc chẹn beta.
- Chỉ được tiến hành khi cả test lấy da, test nội bì âm tính, nhưng tiền sử vẫn nghi ngờ dị ứng (với điều kiện phản ứng trước đó nhẹ, trung bình).
- Đặt đường truyền tĩnh mạch, thực hiện tại trung tâm có khả năng cấp cứu sốc phản vệ
- Các bác sỹ cần sẵn sàng cấp cứu, dụng cụ và phương tiện hồi sức tim phổi đầy đủ, dễ sử dụng
- Các phác đồ có sẵn cần tính toán phù hợp
- Xây dựng làm việc theo nhóm, bệnh nhân được hướng dẫn nhận biết phản ứng sớm.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 02 người
- Kỹ thuật y: 01 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolone 40mg
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10mg
- Thức ăn được chỉ định xét nghiệm (BN tự túc)
- Natriclorid 0,9% 100ml
- Natriclorid 0,9% 500ml
- Chứng Âm tính (Negative control - Natriclorua 0.9%)
- Chứng Dương tính (Positive control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%)

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Pipet 2-20 μ l
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Cối nghiền thức ăn
- Cốc thủy tinh chia thể tích 50 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 100 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 250 ml
- Cốc thủy tinh chia thể tích 500 ml
- Cân tiểu ly

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Dây nối bơm tiêm điện

- Dây truyền
- Kim luồn Catheter
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh về chỉ định xét nghiệm, sự cần thiết và các nguy cơ có thể xảy ra khi tiến hành test kích thích

- Người bệnh đồng ý, chấp nhận nguy cơ và kí vào bản cam kết thủ thuật
- Khai thác tiền sử, bệnh sử dị ứng của bệnh nhân để đưa ra phác đồ test kích thích phù hợp với bệnh nhân. Khai thác các thuốc bệnh nhân đang dùng để phát hiện ra những thuốc có thể ảnh hưởng đến kết quả test kích thích (kháng Histamin, Corticoid, ức chế miễn dịch, kháng IgE), thuốc khác (thuốc chẹn beta).
- Kiểm tra dấu hiệu sinh tồn của bệnh nhân (Mạch, huyết áp, SPO₂), đánh giá toàn trạng bệnh nhân trước khi tiến hành làm test kích thích

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 24- 36 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. Kiểm tra người bệnh: Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật

c. Tư thế bệnh nhân: Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Khám bệnh nhân và xây dựng phác đồ phù hợp với bệnh sử dị ứng của mỗi bệnh nhân.
- Giải thích cho bệnh nhân, người nhà bệnh nhân về chỉ định, nguy cơ khi tiến hành làm xét nghiệm.
- Bệnh nhân đồng ý làm xét nghiệm, kí cam kết làm xét nghiệm.
- Pha thức ăn: Với các nồng độ, chia các liều theo phác đồ bác sĩ đã xây dựng dựa trên tiền sử dị ứng của từng bệnh nhân. Dán nhãn cho mỗi chai tương ứng với mỗi nồng độ.
- Đo mạch, huyết áp, SPO₂ cho bệnh nhân trước khi thực hiện
- Đặt đường truyền tĩnh mạch cho bệnh nhân, lắp máy theo dõi các chỉ số sinh tồn.
- Dùng bơm tiêm lấy thức ăn từ ca thủy tinh đã chia vạch, có dán nhãn nồng độ vào cốc thủy tinh. Liều lượng mỗi lần lấy theo phác đồ đã xây dựng dựa trên tiền sử, bệnh sử của bệnh nhân.
- Thời gian mỗi bước tùy thuộc vào bệnh nhân.
- Số bước làm dự kiến 3-6
- Trong mỗi bước tăng liều, bệnh nhân đều được kiểm tra các chỉ số sinh tồn và các biểu hiện trên lâm sàng.
- Trường hợp bệnh nhân xuất hiện phản ứng thì dừng lại và kết luận

6.2. Nhận định kết quả

- Test kích thích được coi là dương tính khi các triệu chứng từ phản ứng ban đầu được tái hiện hoặc các triệu chứng rõ ràng khác xuất hiện trong quá trình test kích thích.
- Tiến hành cấp cứu ngay khi xuất hiện phản ứng dị ứng.
- Phản ứng âm tính khi kết thúc liệu điều trị bệnh nhân không xuất hiện phản ứng

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mày đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. De Silva D., Geromi M., Panesar S.S. Acute and long-term management of food allergy: systematic review. *Allergy*. 2014;69:159-167.
2. Sampson, Hugh A., et al. "Food allergy: a practice parameter update—2014." *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 134.5 (2014): 1016-1025.
3. Calvani, Mauro, et al. "Oral food challenge: safety, adherence to guidelines and predictive value of skin prick testing." *Pediatric allergy and immunology* 23.8 (2012): 754-760.
4. Mueller RS, Unterer S. Adverse food reactions: Pathogenesis, clinical signs, diagnosis and alternatives to elimination diets. *Vet J*. 2018 Jun;236:89-95.

83. TEST HUYẾT THANH TỰ THÂN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Test huyết thanh tự thân là xét nghiệm in vivo nhằm đánh giá khả năng tự phản ứng. Khả năng tự phản ứng được đặc trưng bởi phản ứng ngứa và bùng phát đối với các yếu tố trong huyết thanh tự thân khi được tiêm vào trong da, chúng hoạt động gián tiếp thông qua việc giải phóng các chất trung gian từ tế bào mast ở da hoặc các tế bào khác hoặc trực tiếp trên vi mạch của da.

1.1.2. Nguyên lý

Mày đay mạn tính tự phát có thể có sự hiện diện của các tự kháng thể chức năng kích hoạt tế bào Mast và bạch cầu ái kiềm bằng cách tạo liên kết ngang với thụ thể ái lực cao với IgE (FcεRI). Test HTTT được sử dụng để chứng minh sự tồn tại của tự kháng thể với IgE hoặc thụ thể ái lực cao với IgE (FcεRI).

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Xác định khả năng tự phản ứng trong bệnh mày đay mạn tính tự phát.

2. CHỈ ĐỊNH

Bệnh nhân mày đay mạn tính tự phát

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tổn thương da lan tỏa cấp tính.
- Trong giai đoạn cấp của bệnh dị ứng.
- Bệnh tim mạch, phổi, tâm thần, gan thận không có khả năng bù trừ.
- Trẻ em sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, nhiễm virus.
- Đang có cơn hen cấp hoặc cơn hen không ổn định.
- Có tiền sử động kinh, tim mạch.
- Bệnh nhân có tổn thương da (da đỏ, bong nước, sản ngứa), vừa xảy ra phản vệ, cơn hen phế quản cấp, chỉ số sinh tồn không ổn định.
- Bệnh nhân đang dùng 1 số thuốc thì phải ngừng thuốc theo bảng sau:

Tên thuốc	Dừng trước làm test da
Kháng histamine	
Kháng H1 thế hệ 1	> 2 ngày
Hydroxyzine	
Kháng H1 thế hệ 2	
Certizine hydrochloride, Loratadin,	> 7 ngày
Ketotifen	> 5 ngày

H2 Blocker	Không
Glucocorticoid	
Tại chỗ	➤ 1 tuần
Đường mũi	0
Đường hít	0
Corticoid toàn thân dùng dưới 10 ngày	
< 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 ngày
> 50 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 1 tuần
Corticoid toàn thân dùng trên 10 ngày	
< 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	0
> 10 mg/ ngày tương đương Prednisolone	> 3 tuần
Ức chế Calcineurin	> 1 tuần
Một số thuốc khác	
Omalizumab	> 4 tuần
Thuốc chống trầm cảm	
Doxepin hydrochloride	7 ngày
Desipramine	3 ngày

4. THẬN TRỌNG

- Phát hiện những trường hợp đang dùng thuốc chẹn beta, ức chế enzyme chuyển dạng Angiotensin (nguy cơ làm nặng các phản ứng dị ứng và/hoặc kháng với điều trị Adrenalin nếu có phản vệ xảy ra)

- Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 02 người
- Điều dưỡng: 01 người
- Kỹ thuật viên: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Chứng Âm tính (Negative control - Natriclorua 0.9%): 1 giọt
- Chứng Dương tính (Positive control - Histamine Phosphate, dùng ở nồng độ 5,43 mmol/L hoặc 2,7 mg/mL, tương đương 1 mg/mL Histamine base hoặc Codeine Phosphate 9%): 1 giọt
- Methylprednisolone 40mg: 2 lọ
- Epinephrine 1mg: 5 ống
- Diphenhydramine: 5 ống

- Natriclorid 0,9% 500ml: 1 chai

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Pipet 2-20 μ l
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Kim tiêm nhựa
- Kim thử test
- Kim luôn Catheter
- Dây truyền
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Mask khí dung
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Găng tay làm xét nghiệm
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn
- Giấy thấm
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn

- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Đồng hồ bấm giờ
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được giải thích về lợi ích và giá trị của xét nghiệm, các nguy cơ có thể xảy ra trong và sau quá trình làm test huyết thanh tự thân
- Ký cam kết đồng ý làm thủ thuật và đo chỉ số sinh tồn (mạch, huyết áp, SPO₂) trước khi làm test.
- Khai thác tiền sử dị ứng và các bệnh đồng mắc.
- Hỏi các thuốc bệnh nhân đang dùng, phát hiện các trường hợp đang dùng thuốc có thể gây ảnh hưởng đến kết quả test huyết thanh tự thân.
- Người bệnh đồng ý tham gia làm test huyết thanh tự thân.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2-3 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi hoặc nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Lấy 3ml máu vào ống đựng máu không có chất chống đông, ghi rõ thông tin bệnh nhân, thời gian lấy máu.
- Để máu lắng trong vòng 30 phút ở nhiệt độ phòng.
- Ly tâm mẫu máu với tốc độ 450 - 500 vòng trong 10 phút.
- Sát khuẩn mặt trước cẳng tay bằng cồn 70°C
- Tiêm huyết thanh trong da, tạo sản có đường kính khoảng 6 - 7mm.

- Tiêm chứng âm Natriclorua 0.9% trong da để tạo nốt sần 6 - 7mm. Các vị trí tiêm cách nhau 5cm.
- Lấy da chứng dương tính bằng Histamin 10mg/ml hoặc tiêm trong da 0,5 - 1μg Histamin (50μg của dung dịch Histamin nồng độ 10 - 20μg/ml).
- Đọc kết quả sau 30 phút

6.2. Nhận định kết quả

- Vạch ngang vị trí tiêm và đánh dấu các cạnh của sẩn phù bằng bút bi
- Đảm bảo phản ứng histamin dương tính
- Tính trung bình cộng của các đường kính vuông góc tối đa của các sẩn đỏ và kiểm tra chứng âm tính
- Test dương tính nếu sẩn huyết thanh - sẩn âm tính $\geq 1,5\text{mm}$

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Ngừng xét nghiệm, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mào đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fiebiger E, Hammerschmid F, Stingl G, Maurer D. Anti-FcεpsilonRIα autoantibodies in autoimmune-mediated disorders: Identification of a structure-function relationship. J Clin Investig. 1998;101:243-51
2. EAACI/GA2LEN task force consensus report: the autologous serum skin test in urticaria. Allergy 2009; 64: 1256-1268.

3. Vohra S, Sharma NL, Mahajan VK. Autologous serum skin test: methodology, interpretation and clinical applications. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2009 Sep-Oct;75(5):545-8.
4. Al-Hamamy HR et al. Autologous serum skin test as a diagnostic aid in chronic idiopathic urticaria. *ISRN Dermatol*. 2013 Apr 18;2013:291524.
5. Asero R, Cugno M, Tedeschi A. Autologous plasma and serum skin test in chronic urticaria. *Br J Dermatol*. 2012 Jun;166(6):1362-3;
6. Marasoğlu Çelen O, Kutlubay Z, Aydemir EH. Usefulness of the autologous serum test for the diagnosis of chronic idiopathic urticaria. *Ann Dermatol*. 2014 Oct;26(5):592-7.

84. TEST HỒI PHỤC PHẾ QUẢN

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

Thăm dò sử dụng thuốc giãn phế quản dạng hít nhằm giúp đánh giá đáp ứng của cơ trơn đường thở của bệnh nhân với thuốc giãn phế quản.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Test hồi phục phế quản với thuốc giãn phế quản nhằm mục đích đánh giá mức độ cải thiện luồng khí sau dùng thuốc giãn phế quản được đo bằng các thay đổi trong FEV1 và FVC. Nghiệm pháp này dùng để chẩn đoán hen phế quản, góp phần chẩn đoán phân biệt hen phế quản và các dạng tắc nghẽn đường thở khác.

2. CHỈ ĐỊNH

Thực hiện sau khi đo hô hấp ký hoặc đo phế thân ký với các trường hợp có triệu chứng hô hấp nghi ngờ mắc hen phế quản hoặc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Người bệnh dị ứng với thuốc giãn phế quản Salbutamol
- Nhiễm trùng đường hô hấp cấp
- Ho ra máu không rõ nguyên nhân
- Phình động mạch chủ ngực, chủ bụng
- Vừa mới qua đợt cấp bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD), hen dưới 6 tuần
- Nhồi máu cơ tim, phẫu thuật mắt, bụng, ngực dưới 3-6 tháng
- Đau ngực không rõ chẩn đoán
- Đau thắt ngực không ổn định trong 24 giờ
- Lao phổi tiến triển

4. THẬN TRỌNG

Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Natriclorid 0.9 % 500 ml
- Salbutamol 100mcg (200 liều) (hộp xịt) (1 hộp dùng được 40 BN)
- Nước cất 2 lần

5.3. Vật tư

4.3.1 Dụng cụ

- Dây kết nối máy đo và hệ thống cảm biến (sử dụng trong vòng 6 tháng)
- Mask xịt thuốc buồng đệm (1 lần hấp sấy khử khuẩn)
- Buồng đệm
- Cân điện tử
- Thước đo
- Nhiệt kế, ẩm kế

4.3.2 Vật tư tiêu hao

- Kẹp mũi
- Phin lọc khuẩn dùng cho máy đo chức năng hô hấp
- Buồng đệm
- Gạc tiểu phẫu 6cm x10cm x12 L
- Khẩu trang N95 (1 người, 2 cái/ ngày)
- Pin tiểu AAA - dùng cho cân điện tử
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Hệ thống máy phé thân ké (Body Box) gồm buồng đo cùng cảm biến áp suất, máy tính, máy in, phần mềm đo và lưu giữ kết quả,...
- Bơm định chuẩn: Xilanh 3 lít
- Bình hỗn hợp khí: He-CO-Nito-oxy
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm

- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

Người bệnh được hướng dẫn chi tiết mục đích của kỹ thuật và các bước tiến hành

- Thu thập chiều cao và cân nặng
- Tuổi tại ngày xét nghiệm
- Người bệnh nghỉ ngơi trước khi đo 15 phút.
- Không vận động gắng sức trước đo 1 - 2 giờ
- Ghi nhận thuốc dùng.
- Ghi lại thời điểm gần nhất bệnh nhân dùng thuốc giãn phế quản.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Tư thế bệnh nhân ngồi thẳng
- + Tháo nắp ống ngâm bình xịt
- + Lắc bình xịt 8-10 lần, mục đích làm trộn đều thuốc với khí
- + Xịt liều đầu tiên ra ngoài để kiểm tra ống xịt
- + Cho người bệnh thổi hết hơi ra ngoài
- + Đặt đầu ngâm của bình hít vào miệng, mím chặt môi, lưỡi để ở dưới tránh để lưỡi che miệng bình xịt, ngón cái đỡ dưới miệng bình xịt, ngón trỏ ở đáy bình xịt
- + Khi ngón trỏ ấn bình xịt đồng thời nói với người bệnh hít chậm từ từ sâu, dài cho đến khi hết và nín thở lại 5 giây
- + Lấy bình xịt ra và lập lại các bước như trên
- Trường hợp sử dụng buồng đệm (Babyhaler) cho trẻ em hay người già
- + Lắc bình xịt theo chiều thẳng đứng của bình xịt
- + Tháo nắp đầu ngâm của bình
- + Gắn vào 1 đầu của buồng đệm, đặt đầu còn lại vào miệng của người bệnh

- + Ấn bình xịt, đồng thời nói người bệnh hít vào thổi ra liên tục, đếm từ 1-15 và lặp lại 1 lần nữa theo các bước trên sau 30 giây
- + Lấy bình xịt ra khỏi buồng đệm.
- + Đậy nắp bình xịt
- + Ống xịt và đầu của buồng đệm kê vào miệng người bệnh ngâm dung dịch sát khuẩn, rửa sạch và lau khô
- Sau khi hít 400mcg salbutamol kỹ thuật viên sẽ đo lại chức năng hô hấp sau 10 phút
- Đo lại 3-8 lần mỗi chỉ số VC, FVC đảm bảo tiêu chuẩn: đường thở ra phải trơn tru không gấp ghe, gấp khúc; thời gian thở ra phải ít nhất 6 giây đối với người lớn, 3 giây đối với trẻ em, phải có 1 giây bình nguyên cuối cùng của thì thở ra; Thì thở ra phải mạnh và hết sức và đạt đỉnh phía trên là một tam giác không cân; Phía dưới của thì hít vào là 1 hình bán nguyệt; Người bệnh phải thổi được 3 lần, có 2 lần có tính lặp lại và chênh nhau không quá 5% hoặc 150ml.
- Điều dưỡng/kỹ thuật viên ghi lại các thông tin gây trở ngại trong quá trình thực hiện như người bệnh ho nhiều hoặc không hợp tác vào phần chú thích;
- Điều dưỡng in kết quả và chuyển cho bác sỹ đọc kết quả;
- Bác sỹ phiên giải kết quả: Có đáp ứng thuốc giãn phế quản hay không: có/không

6.2. Nhận định kết quả

- Tiêu chuẩn kết thúc test
- + Quan sát có bình nguyên 1 giây trên đường cong thể tích - thời gian..
- + Thời gian thở ra tối thiểu
- + Sáu giây (3s ở trẻ em dưới 10 tuổi).
- + Tiêu chuẩn lặp lại
- ✓ Có ít nhất 3 đường cong đạt các tiêu chuẩn chấp nhận để kết thúc Test
- ✓ Chênh lệch giữa 2 kết quả có FVC cao nhất ít hơn 150 ml (< 100 ml khi $FVC < 1$ L).
- Test dương tính khi: Bệnh nhân có đáp ứng tốt với thuốc giãn phế quản, FEV1 cải thiện được 200 ml và 12 %.
- Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Graham BL, Steenbruggen I, Miller MR, et al. Standardization of Spirometry 2019 Update. An Official American Thoracic Society and European Respiratory Society Technical Statement. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Oct 15;200(8):e70-e88.
2. Boros PW, Martusewicz-Boros MM. New spirometry? The 2019 update of the test standardization. *Adv Respir Med*. 2020;88(2):95-98.
3. Stanojevic S, Kaminsky DA, Miller MR, et al. ERS/ATS technical standard on interpretive strategies for routine lung function tests. *Eur Respir J*. 2022 Jul 13;60(1):2101499.
4. Brusasco V, Pellegrino R. Pulmonary function interpretative strategies: from statistics to clinical practice. *Eur Respir J*. 2022 Jul 13;60(1):2200317.
5. Presti TP, Johnson DC. Improving pulmonary function test interpretation. *Eur Respir J*. 2023 Jan 19;61(1):2201858.
6. Bhakta NR, McGowan A, Ramsey KA, Borg B, Kivastik J, Knight SL, Sylvester K, Burgos F, Swenson ER, McCarthy K, Cooper BG, García-Río F, Skloot G, McCormack M, Mottram C, Irvin CG, Steenbruggen I, Coates AL, Kaminsky DA. European Respiratory Society/American Thoracic Society technical statement: standardisation of the measurement of lung volumes, 2023 update. *Eur Respir J*. 2023 Oct 12;62(4):2201519.
7. Crisafulli E, Sartori G, Patruno V, Fantin A. Bronchodilator reversibility in patients with asthma and persistent airflow limitation. *Lancet Respir Med*. 2022 Nov;10(11):e94-e95.
8. Sim YS, Lee JH, Lee WY, Suh DI, Oh YM, Yoon JS, Lee JH, Cho JH, Kwon CS, Chang JH. Spirometry and Bronchodilator Test. *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. 2017 Apr;80(2):105-112.
9. Ferrer Galván M, Javier Alvarez Gutiérrez F, Romero Falcón A, Romero Romero B, Sáez A, Medina Gallardo JF. Is the bronchodilator test an useful tool to measure asthma control? *Respir Med*. 2017 May;126:26-31.
10. Mehrparvar AH, Mirmohammadi SJ, Sohrabi MM. Spirometric indices after bronchodilator test in obstructive lung disease. *Acta Med Iran*. 2010 Jul-Aug;48(4):226-30.

85. TEST KÍCH THÍCH PHẾ QUẢN KHÔNG ĐẶC HIỆU VỚI METHACHOLINE

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

- Nghiệm pháp kích thích phế quản bằng hoá chất là một phương pháp dùng để đánh giá sự tăng tính phản ứng của đường thở giúp chẩn đoán những trường hợp nghi ngờ hen phế quản mà bằng các phương pháp truyền thống không chẩn đoán được.
- Phần lớn người bệnh có biểu hiện các phản ứng kích thích phế quản không đặc hiệu. Đáp ứng phế quản được đánh giá bằng đo hô hấp kế cổ điển

1.2.2. Nguyên lý

- Kỹ thuật được thực hiện bằng cho bệnh nhân hít hoặc khí dung dịch hoá chất (thường dùng: Methacholine, Manitol,...) với nồng độ đã được biết trước, làm nhiều lần cho đến khi đạt đến liều tác dụng.
- Giải pháp Methacholine hoạt động bằng cách kích thích các sợi thần kinh nhất định trong phổi, gây co thắt cơ bắp của đường hô hấp.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Methacholine test là một trong những phương pháp đánh giá đáp ứng của đường thở. Methacholine test được xem xét khi thăm dò các dung tích phổi không xác định được hoặc loại trừ chẩn đoán. Methacholine test có ý nghĩa nâng cao khả năng dự đoán hen và theo dõi đáp ứng điều trị

2. CHỈ ĐỊNH

- Chẩn đoán Hen phế quản
- Xác định nguy cơ phát triển hen
- Đánh giá mức độ nghiêm trọng và đáp ứng điều trị trong Hen phế quản
- Đánh giá hen nghề nghiệp

(không thay thế các phương pháp khác trong chẩn đoán Hen phế quản)

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Rối loạn chức năng thông khí nặng ($FEV1 < 50\%$ hoặc $< 1.0\text{ L}$)
- Nhồi máu cơ tim hoặc đột quỵ trong 3 tháng gần đây.
- Tăng huyết áp không kiểm soát được, huyết áp tâm thu $> 200\text{ mmHg}$ hoặc huyết áp tâm trương $> 100\text{ mmHg}$.
- Phình động mạch chủ đã được chẩn đoán từ trước.

4. THẬN TRỌNG

- Rối loạn chức năng thông khí mức độ trung bình ($FEV1 < 60\%$ hoặc 1.5 L)
- Không có khả năng thực hiện việc đo chức năng thông khí

- Phụ nữ có thai
- Phụ nữ đang cho con bú.
- Đang sử dụng thuốc ức chế Cholinesterase (để điều trị nhược cơ kinh niên)

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Provacholine 100mg (Methacholine)
- Methylprednisolone 40mg
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine
- Natriclorid 0.9 % 500 ml
- Salbutamol 100mcg (200 liều) (hộp xịt) (1 hộp dùng được 40 BN)
- Nước cất 2 lần

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Pipet 2-20 µl
- Giá cầm đầu côn
- Giá đựng Pipet
- Đồng hồ bấm giờ
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Kẹp mũi
- Phin lọc khuẩn dùng cho máy đo chức năng hô hấp
- Ống giấy ngậm
- Buồng đệm
- Ống ly tâm đáy tròn
- Dây truyền huyết thanh
- Bộ xông khí dung
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Băng dính y tế

- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Bông hút
- Oxy
- Dây Oxy
- Gạc tiểu phẫu 6cm x10cm x12 L
- Khẩu trang N95 (1 người, 2 cái/ ngày)
- Pin tiểu AAA - dùng cho cân điện tử
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- *Trong thời gian chờ*
- Hướng dẫn BN các thuốc cần tránh sử dụng trước khi thực hiện test

CÁC YẾU TỐ LÀM GIẢM ĐÁP ỨNG PHẾ QUẢN	
Yếu tố	Thời gian tối thiểu từ liều cuối cùng đến khi thực hiện test
Thuốc	
Thuốc giãn phế quản dạng hít tác dụng ngắn (Isoproterenol, Isoetharine, Metaproterenol, Albuterol, Terbutaline)	8h
Thuốc giãn phế quản tác dụng trung bình (Ipratropium)	24h
Thuốc giãn phế quản tác dụng kéo dài (Salmeterol, Formoterol, Tiotropium)	48h (có thể 1 tuần với Tiotropium)
Thuốc giãn phế quản đường uống	
Theophylline dạng dung dịch	12h
Theophylline tác dụng nhanh	24h
Theophylline tác dụng kéo dài	48h
Thuốc cường Beta-2 dạng viên chuẩn	12h
Thuốc cường Beta-2 dạng viên tác dụng kéo dài	24h
Cromolyn	8h
Nedocromil	48h
Hydroxazine, Cetirizine	3 ngày
Thuốc kháng Leukotriene	24h
Ăn uống	
Cà phê, trà, đồ uống có ga, sô-cô-la	Ngày thực hiện test
CÁC YẾU TỐ LÀM TĂNG ĐÁP ỨNG ĐƯỜNG THỞ	
Yếu tố	Thời gian tác dụng
Tiếp xúc với môi trường có dị nguyên	1 - 3 tuần
Nhạy cảm trong nghề nghiệp	Nhiều tháng
Nhiễm khuẩn hô hấp	3 - 6 tuần
Ô nhiễm không khí	1 tuần
Hút thuốc	Không chắc chắn
Chất kích thích hóa học	Nhiều ngày đến nhiều tháng

- **Trước khi thực hiện test**

- Giải thích cho bệnh nhân về quy trình thực hiện test.
- Yêu cầu bệnh nhân đi tiểu trước khi thực hiện test.
- Ký cam kết đồng ý thực hiện test.
- Đánh giá chống chỉ định và các thuốc BN đang dùng.

- **Trong quá trình thực hiện test**

- BN phải hiểu được quy trình và thực hiện đúng việc đo chức năng hô hấp.
- BN cần được ngồi thoải mái trong khi thực hiện test.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

5.1. Các bước thực hiện

- Kiểm tra người bệnh: cần chắc chắn người bệnh đã được chuẩn bị đầy đủ.
- Giải thích mục đích của kỹ thuật cũng như các thao tác thực hiện để phối hợp
- Ký cam kết thực hiện thủ thuật.
- Đo hô hấp ký cơ bản trước làm test. Kiểm tra lại các chống chỉ định (đặc biệt lưu ý kiểm tra các chống chỉ định liên quan đến chức năng hô hấp).
- Người bệnh thở ra tối đa sau đó bật máy khí dung định liều, liều khởi đầu 20mcg, người bệnh hít sâu, nín thở 10 giây, sau khi đủ 20mcg Methacholine, máy tự ngắt, người bệnh hít thở trở lại bình thường, đo lại FEV1 sau 1 phút. Từ lần thứ hai trở đi, liều Methacholin gấp đôi liều lần trước. Liều tối đa 1280mcg.
- Người bình thường tăng phản ứng phế quản không đặc hiệu thường xuất hiện ở liều > 2650mcg.
- Sau mỗi lần khí dung Methacholin phải đo lại FEV1.
- Dừng nghiệm pháp khi người có biểu hiện tăng phản ứng phế quản biểu hiện, ho hoặc khó thở, FEV1 giảm 20% so với FEV1 trước đó thì dừng, mời bác sĩ khám người bệnh.
- Khí dung hoặc xịt thuốc giãn phế quản cho người bệnh, ngay cả khi có kết quả test kích thích âm tính.
- Đo lại chức năng hô hấp cho người bệnh sau khi kết thúc test để đảm bảo tình trạng cơ thắt phế quản của người bệnh đã hồi phục hoàn toàn

5.3. Nhận định kết quả

- Kết quả được đọc dương tính ở nồng độ gây giảm 20% FEV1 so với giá trị FEV1 ban đầu (PC20).
- Sau khi khí dung liều cuối 1280mcg, người bệnh không có biểu hiện tăng phản ứng thì kết luận kết quả test âm tính

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lyon Pharmaceutique (2001), "Hyperréactivité bronchique non spécifique et test de provocation à la méthacholine";52: 166-181.
2. Dennis L. Kasper, Eugene Braunwald, Anthony S. Fauci et al "Harrison's principle of internal medicine" 18th edition Mc Graw Hill company, 2011.
3. Gerald L. Baum, Jeffrey, Md. Glassroth et al "Baum's Textbook of Pulmonary Diseases 7th edition", Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2003.
4. Wanger J (2012). "Mannitol challenge test". Pulmonary function testing - A practical approach. Chapter 8. Jones & Barlett learning. P: 241-249.
5. Cockcroft DW, Marciniuk DD, Hurst TS, Cotton DJ, Laframboise KF, McNab BD, Skomro RP. Methacholine challenge: test-shortening procedures. Chest. 2001 Dec;120(6):1857-60.
6. Louis R, Bougard N, Guissard F, Paulus V, Henket M, Schleich F. Bronchodilation Test with Inhaled Salbutamol Versus Bronchial Methacholine Challenge to Make an Asthma Diagnosis: Do They Provide the Same Information? J Allergy Clin Immunol Pract. 2020 Feb;8(2):618-625.e8.
7. Woo H, Samra MS, Lim DH, Kim JH. Current Asthma Prevalence Using Methacholine Challenge Test in Korean Children from 2010 to 2014. J Korean Med Sci. 2021 May 17;36(19):e130.
8. Colombo G, Terzano C, Colombo P, Petroianni A, Ricci A, Buttini F. Methacholine dry powder inhaler as a new tool for bronchial challenge test. Int J Pharm. 2008 Mar 20;352(1-2):165-71.
9. Bokov P, Delclaux C. Interpretation and use of routine pulmonary function tests: Spirometry, static lung volumes, lung diffusion, arterial blood gas, methacholine challenge test and 6-minute walk test. Rev Med Interne. 2016 Feb;37(2):100-10.

86. ĐO FeNO

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Hen phế quản là một bệnh mạn tính của đường hô hấp, được đặc trưng bởi tình trạng viêm mạn tính đường thở, co thắt phế quản và tăng tính phản ứng phế quản. Một số các thăm dò xâm nhập để đánh giá tình trạng viêm đường thở như sinh thiết phế quản, chải rửa phế quản rất khó thực hiện và không được khuyến cáo áp dụng rộng rãi trong thực hành điều trị. Kể từ khi phát hiện Nitric oxide trong khí thở ra năm 1991 và những nghiên cứu về mối liên quan của nó với tình trạng viêm đường thở tăng bạch cầu ái toan thì FeNO đã dần trở thành một trong những biomarker không xâm nhập quan trọng để đánh giá tình trạng viêm đường thở trong hen phế quản và theo dõi đáp ứng với điều trị chống viêm bằng corticoid dạng hít

1.1.2. Nguyên lý

Khí NO (nitric oxide) được tạo ra từ phản ứng chuyển L-arginine thành L-citrulline với sự xúc tác của men NOS (nitric oxide synthase). Có 3 loại men NOS: eNOS (endothelial NOS), iNOS (inducible NOS) và nNOS (neuronal NOS). Ở người bệnh hen có cơ địa dị ứng, interleukine-4 và interleukine-13 được tạo ra từ đáp ứng viêm loại TH2 (tế bào limpho T giúp đỡ loại 2) làm tăng tổng hợp iNOS trong tế bào biểu mô phế quản, từ đó làm tăng nồng độ NO trong thành phế quản. NO từ thành phế quản khuếch tán vào lòng phế quản do chênh lệch nồng độ. Do đó, NO trong khí thở ra (FeNO: Fraction of exhaled Nitric Oxide) được xem như là một dấu ấn sinh học trực tiếp cho đáp ứng viêm loại TH2 (hoặc viêm tăng bạch cầu ái toan) ở người bệnh Hen.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Đo nồng độ NO trong khí thở ra (FeNO: Fraction of exhaled Nitric Oxide) là một xét nghiệm đã được chuẩn hóa, đơn giản, nhanh, không xâm lấn và có độ tin cậy cao; giúp nhận dạng và theo dõi diễn tiến viêm tăng bạch cầu ái toan ở bệnh nhân hen. FeNO đáp ứng nhu cầu cá thể hóa điều trị hen. Những nhóm bệnh nhân hen nhất định sẽ hưởng lợi từ xét nghiệm FeNO do nó hỗ trợ cho chức năng hô hấp trong chẩn đoán hen, dự báo đáp ứng với điều trị kháng viêm, hướng dẫn điều chỉnh điều trị kháng viêm, kiểm chứng tuân thủ điều trị và dự báo đợt cấp sắp xảy ra.

2. CHỈ ĐỊNH

- Chẩn đoán hen phế quản
- Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính
- Nhiễm khuẩn đường hô hấp
- Viêm phế quản có tăng bạch cầu ái toan
- Bệnh dị ứng: VMDU, Eczema, Atopy

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Hen phế quản nặng
- Suy tim nặng
- Suy hô hấp
- Tăng áp động mạch phổi nhiều

4. THẬN TRỌNG

- Phụ nữ có thai
- Phụ nữ đang cho con bú.

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methacholine 100mg
- Methylprednisolone 40mg
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine
- Salbutamol 5mg KD
- Natriclorid 0.9 % 500 ml
- Salbutamol 100mcg (200 liều) (hộp xịt) (1 hộp dùng được 40 BN)
- Nước cất 2 lần

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Dây đo NO khoang miệng (dùng cho 50 BN)
- Gói đệm mũi đo NO
- Dây đo NO mũi (dùng cho 50 BN)
- Adaptor đo NO (1 năm thay 1 lần)
- Túi khí NO chuẩn định (1 năm thay 1 lần)
- Cốc lọc CO₂ FeNO (6 tháng thay 1 lần)
- NO cell (2 năm thay 1 lần)
- Bơm SP100EC FeNO + (6 tháng thay 1 lần)
- Cân điện tử
- Đồng hồ bấm giờ
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Kẹp mũi đo FeNO
- Phin lọc khuẩn dùng cho máy đo FeNO
- Gạc tiểu phẫu 6cm x10cm x12 L
- Khẩu trang N95 (1 người, 2 cái/ ngày)
- Pin tiểu AAA - dùng cho cân điện tử
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Khẩu trang
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Máy đo FeNO
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

Yêu cầu đối với bệnh nhân trước khi đo FeNO:

- + Không dùng thức ăn, đồ uống trước khi tiến hành đo ít nhất 1 - 2 giờ
- + Không hút thuốc lá, thuốc lào trước khi xét nghiệm ít nhất 1 - 2 giờ
- + Không vận động gắng sức trước đo 1 - 2 giờ
- + Nên hoãn lại đo FeNO nếu trước đó bệnh nhân có nhiễm khuẩn đường hô hấp cấp hoặc phải thông báo cho bác sĩ điều trị biết.
- + Các xét nghiệm liên quan như đo chức năng hô hấp, test kích thích phế quản bằng methacholin phải đo sau khi đo FeNO (các xét nghiệm này có thể làm giảm nồng độ FeNO).
- Ghi lại thời điểm gần nhất bệnh nhân dùng thuốc giãn phế quản.

- Giải thích cho bệnh nhân về ý nghĩa và quy trình đo FeNO

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện xét nghiệm

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. Kiểm tra người bệnh: Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật

c. Tư thế bệnh nhân: Ngồi

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

6.1.1. Định chuẩn máy

- Kiểm chuẩn NO môi trường
- + Mở máy trước 20 phút => Ambient
- + Tần suất mỗi ngày
- Định chuẩn nồng độ
- + Tuyến tính 3 điểm (0 và 2 nồng độ NO khác)
- + Khí thở ra (10 - 100 ppb), mũi (0,4 - 50 ppb)

6.1.2. Kỹ thuật viên đo FeNO

- Khởi động máy
- Định chuẩn máy
- Nhận phiếu yêu cầu đo FeNO
- Đo cân nặng, chiều cao của người bệnh;
- Nhập họ tên, năm sinh, giới tính, cân nặng, chiều cao, chủng tộc vào máy đo;
- Tư thế người bệnh: ngồi thẳng lưng ở tư thế thoải mái.

6.1.3. Tiến hành đo

- Bước 1: Người bệnh thở ra tối đa
- Bước 2: Người bệnh ngậm ống và hít vào tối đa khí trời không có NO
- Bước 3: Cuối thì hít vào, người bệnh thở ra chậm tại một tốc độ cố định 50ml/s. 6 giây đầu thở ra bị loại bỏ do là thể thích rửa khí trời, 4 giây tiếp theo được trữ trong túi lấy mẫu
- Đo 2 lần đạt chuẩn và lấy giá trị trung bình. Nếu 2 lần chênh nhau > 10% thì đo lại lần 3.
- Tiếp theo đo NO phế nang: đo 2-3 lần tương tự nghiệm pháp đo NO phế quản tùy theo chỉ định sẽ lựa chọn lưu lượng thở ra khác nhau (50, 100 và 150ml/s)

- Tiêu chuẩn đánh giá kiểm tra chất lượng
- + Trong quá trình đo, bệnh nhân không nín thở, không hít khí trời
- + Duy trì áp lực miệng (Press.NO): $5 - \leq 20 \text{ cmH}_2\text{O}$
- + Lưu lượng thở ra ổn định tại một tốc độ: mức lưu lượng $\pm 10\%$
- + Thời gian hút vào tới tối đa trong 2-3 giây
- + Thời gian thở ra:
- + Trẻ em < 12 tuổi: ≥ 4 giây
- + Người lớn, thanh thiếu niên ≥ 12 tuổi: ≥ 6 giây
- + Đánh giá bình nguyên:
- + Có thể nằm ngang hoặc lên xuống một ít nhưng $|A-B| < 10\%$
- + Các điểm giữa A và B chênh nhau $\leq 10\%$
- + Với giá trị FeNO < 10 ppb, $|A-B|$ cho phép là 1 ppb
- + Chỉ số tin cậy Confidence Index $\geq 60\%$
- + Chỉ số đánh giá độ ổn định của lưu lượng thở ra Flow Index $\geq 80\%$
- + Tiêu chuẩn lặp lại được: 2 lần đo FeNO chênh nhau $\leq 10\%$

6.2. Nhận định kết quả

- Đánh giá chất lượng đo: tiêu chuẩn chất lượng kết quả đo cần đạt:
- + Độ ổn định (Stability): $\geq 80\%$;
- + Độ tin cậy (Confidence): $\geq 60\%$;
- + Đo 2 lần và lấy giá trị trung bình. Nếu 2 lần chênh nhau $> 10\%$ thì đo lại lần 3.
- FeNO tăng: có/không, mức độ
- FeNO thay đổi có ý nghĩa so với nền: có/không.

Kết luận	Trẻ em < 12 tuổi	Người lớn ≥ 12 tuổi
Đo lần đầu		
Bình thường	< 20 ppb	< 25 ppb
Tăng trung bình	20 - 35 ppb	25 - 50 ppb
Tăng nhiều	≥ 35 ppb	≥ 50 ppb
Đo tái khám		
Tăng có ý nghĩa	> 10 ppb hoặc > 20% so với lần đo cuối	

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bjermer L, Alving K, Diamant Z, et al. Current evidence and future research needs for FeNO measurement in respiratory diseases. *Respir Med*. 2014;108(6):830-841.
2. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171(8):912-930;
3. Sandrini A, Taylor DR, Thomas PS, Yates DH. Fractional exhaled nitric oxide in asthma: an update. *Respirology*. 2010;15(1):57-70;
4. Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, et al. Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172(4):453-459;
5. Taylor DR, Cowan DC. Assessing airway inflammation. *Thorax*. 2010;65(12):1031-1032;
6. Essat M, Harnan S, Gomersall T, et al. Fractional exhaled nitric oxide for the management of asthma in adults: a systematic review. *Eur Respir J*. 2016;47(3):751-768;
7. Gomersall T, Harnan S, Essat M, et al. A systematic review of fractional exhaled nitric oxide in the routine management of childhood asthma. *Pediatr Pulmonol*. 2016;51(3):316-328;
8. Wagener AH, de Nijs SB, Lutter R, et al. External validation of blood eosinophils, FE(NO) and serum periostin as surrogates for sputum eosinophils in asthma. *Thorax*. 2015;70(2):115-120;
9. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, et al. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184(5):602-615.
10. Hoggins, Rhiannon, Madhavi Velpula, Susan Woodward, and Mark Peter Tighe. "How to Use the Fractional Exhaled Nitric Oxide Test." *Archives of Disease in Childhood - Education and Practice* 107, no. 2 (April 1, 2022): 133-40.
11. Miskoff, Jeffrey A, Asa Dewan, and Moiuz Chaudhri. "Fractional Exhaled Nitric Oxide Testing: Diagnostic Utility in Asthma, Chronic Obstructive Pulmonary Disease, or Asthma-Chronic Obstructive Pulmonary Disease Overlap Syndrome." *Cureus* 11, no. 6 (n.d.): e4864.

87. ĐO PHẾ DUNG KẾ - SPIROMETRY (FVC, SVC, TLC)

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

Phế thân kế là một phương pháp thăm dò chức năng hô hấp toàn diện. Phế thân ký giúp đo lường các thể tích phổi trong đó có: Tổng dung lượng phổi (TLC), dung tích sống gắng sức (FVC), dung tích sống thở chậm (SVC).

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Chẩn đoán và theo dõi đánh giá mức độ nặng nhẹ của các bệnh lý hô hấp. Kỹ thuật giúp ghi lại những thông số liên quan đến hoạt động của phổi, từ đó giúp đánh giá hai hội chứng rối loạn thông khí: Tắc nghẽn và hạn chế.

2. CHỈ ĐỊNH

- Chẩn đoán và theo dõi bệnh phổi hạn chế
- FVC hoặc VC giảm trên hô hấp ký
- Lượng giá bệnh phổi tắc nghẽn như hen phế quản, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính...
- Chẩn đoán và theo dõi bệnh phổi kẽ
- Chẩn đoán và theo dõi bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính.
- Phân biệt rõ hội chứng tắc nghẽn và hội chứng hạn chế trên kết quả hô hấp ký
- Theo dõi ảnh hưởng của các bệnh lý khác lên đường hô hấp: Bệnh thần kinh cơ (hội chứng Guillain-Barre, nhược cơ, viêm tủy lan lên), các bệnh mô liên kết (lupus ban đỏ, xơ cứng bì, viêm đa khớp dạng thấp, viêm da cơ,...).
- Theo dõi hiệu quả của các phương pháp dự phòng và điều trị bệnh, phục hồi chức năng.
- Giám định y khoa, giám định thương tật, suy giảm chức năng hô hấp (CNHH).
- Theo dõi ảnh hưởng của môi trường gây bệnh phổi nghề nghiệp, của xạ trị hay của thuốc độc đến đường hô hấp.
- Đánh giá chức năng hô hấp trước phẫu thuật và lượng giá kết quả sau khi phẫu thuật lồng ngực.
- Bất thường về thành ngực và cột sống.
- Lượng giá sức cản đường dẫn khí và giới hạn lưu lượng khí
- Theo dõi tiến trình bệnh và đáp ứng với điều trị
- Xác định đáp ứng thuốc dẫn phế quản, tăng phản ứng phế quản
- Tầm soát các đối tượng có nguy cơ cao: hút thuốc, tiếp xúc với không khí ô nhiễm.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Đang có nhiễm trùng cấp: Lao phổi, Covid 19...
- Ho máu không rõ nguyên nhân.

- Tràn khí màng phổi.
- Tình trạng tim mạch không ổn định.
- Nhồi máu cơ tim và tai biến mạch não mới.
- Người bệnh không hợp tác.
- Người bệnh mắc chứng sợ không gian hẹp
- Người bệnh có các thiết bị không vừa trong buồng phế thân ký hoặc có thể làm thay đổi áp suất trong buồng (như có ống dẫn lưu màng phổi, mở khí quản, thùng màng nhĩ,..)
- Điều trị oxy liên tục không ngừng tạm thời được.

4. THẬN TRỌNG

Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Natriclorid 0.9 % 500 ml
- Salbutamol 100mcg (200 liều) (hộp xịt) (1 hộp dùng được 40 BN)
- Nước cất 2 lần

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Dây kết nối máy đo và hệ thống cảm biến (sử dụng trong vòng 6 tháng)
- Thước đo
- Cân điện tử
- Đồng hồ bấm giờ
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Kẹp mũi
- Phin lọc khuẩn dùng cho máy đo chức năng hô hấp
- Buồng đệm
- Cảm biến phân tích O₂
- Van bong bóng GEM xanh
- Gạc tiểu phẫu 6cm x10cm x12 L
- Khẩu trang N95 (1 người, 2 cái/ ngày)

- Pin tiểu AAA - dùng cho cân điện tử
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Hệ thống máy phé thân kế gồm buồng đo cùng cảm biến áp suất, máy tính, máy in, phần mềm đo và lưu giữ kết quả,...
- Bơm định chuẩn: Xilanh 3 lít
- Bình hỗn hợp khí: He-CO-Nito-oxy
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được hướng dẫn chi tiết mục đích của kỹ thuật và các bước tiến hành
- Thu thập chiều cao và cân nặng
- Tuổi tại ngày xét nghiệm
- Người bệnh nghỉ ngơi trước khi đo 15 phút.
- Không vận động gắng sức trước đo 1 - 2 giờ
- Ghi nhận thuốc dùng.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

6.1.1. Định chuẩn máy

- Khởi động máy
- Định chuẩn thể tích bằng bơm 3L
- Định chuẩn buồng phế thân ký
- Định chuẩn đầu dò áp lực miệng
- Định chuẩn áp lực buồng qua tuyến tính thể tích áp lực buồng
- Tần suất: mỗi ngày hoặc khi tiến hành đo
- Định chuẩn sinh học: Đo người khỏe mạnh, không hút thuốc lá. Lỗi khi:
 - + Giá trị đo được chênh lệch gấp # 2 lần tiêu chuẩn lặp lại được so với giá trị đo được trước đó
 - + FRC hoặc TLC chênh lệch > 10%
 - + RV chênh lệch > 20%

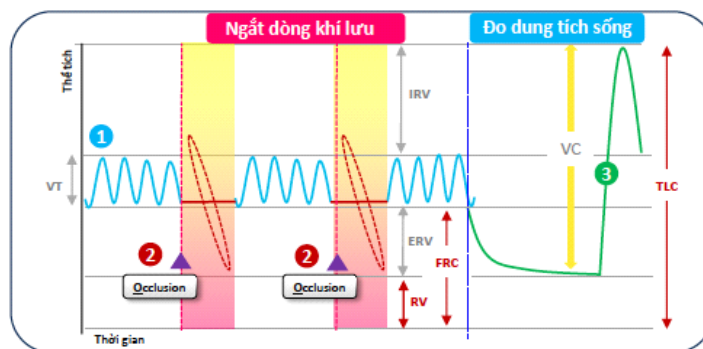
6.1.2. Chuẩn bị người bệnh

- Người bệnh sau khi đã hoàn tất phần điền các phiếu tự đánh giá trước khi đo, sẽ được đưa vào buồng đo phế thân ký.
- Người bệnh được ngồi vào ghế trong buồng đo. Điều chỉnh ghế ngồi và đầu đo phù hợp với người bệnh, sao cho lưng và cổ người bệnh thẳng.
- Người bệnh được kẹp mũi, hướng dẫn ngậm chặt ống ngậm
- Hướng dẫn người bệnh động tác thực hiện đo TLC, có thể yêu cầu người bệnh làm thử trước. Yêu cầu của động tác thở trong khi đo TLC: hai tay ép nhẹ hai bên má (nhằm hạn chế di động của má), thở ra, hít vào đều đặn với tần số 30-60 lần/ phút. Nhắc người bệnh tiếp tục thở ngay cả khi có cảm giác tắc ống thổi.

6.1.3. Tiến hành đo

BƯỚC	NỘI DUNG
Đánh giá chỉ định, chống chỉ định và phiếu đồng ý	Nhận định lý cần đo phế thân ký, sức cản đường dẫn khí
	Ghi nhận các chống chỉ định khác nếu có
	Viết giấy từ chối đo và hẹn đo lại nếu có chống chỉ định
Tạo lập thông tin bệnh nhân	Họ tên người bệnh, mã số
	Giới tính, chiều cao (đo tại phòng), bộ giá trị tham khảo GLI
	Cân nặng, KTV đo
Chuẩn bị bệnh nhân	Hướng dẫn người bệnh/thân nhân về quá trình đo cho bệnh nhân mới

Nghiệm pháp dung tích sống chậm (VC)	Đo VC bệnh nhân kẹp mũi, ngậm chặt ống ngậm, hút thổi nhẹ nhàng ổn định không thở hỗn hển, sau đó hút thật sâu và thở kéo dài từ từ đến hết.
Nghiệm pháp phế thân ký (TLC)	Đóng cửa buồng đo, đợi ≥ 20 giây
	Bệnh nhân kẹp mũi, ngậm chặt ống ngậm $\Rightarrow$ thở TV ổn định (không thở hỗn hển) $\Rightarrow$ Cuối thì thở ra nhẹ nhàng $\Rightarrow$ Đóng màn chấp $\Rightarrow$ Bệnh nhân vẫn duy trì nhịp thở nhẹ nhàng $\Rightarrow$ màn chấp mở sau 1 nhịp thở $\Rightarrow$ Bệnh nhân tiếp tục thở đều 3 - 4 nhịp $\Rightarrow$ thực hiện lặp lại 3 - 5 lần đóng màn chấp $\Rightarrow$ kết thúc bằng nghiệm pháp VC
	Đo ít nhất 3 kết quả đạt chất lượng
	Báo cáo giá trị FRC_{pleth} trung bình
Nghiệm pháp dung tích sống gắng sức (FVC)	Đo FVC bệnh nhân kẹp mũi, ngậm chặt ống ngậm, hút thổi nhẹ nhàng ổn định không thở hỗn hển, sau đó hút thật nhanh mạnh và thở ra nhanh mạnh kéo dài gắng sức đến hết.
Trả kết quả	Chọn lựa biểu mẫu trả kết quả
	Kiểm tra thông tin bệnh nhân và kết quả đo
	Phân tích kết quả cho các trường hợp chỉ định ngoài
	Hướng dẫn bệnh nhân quay về BS chỉ định
	Cân nhắc việc đo thêm hoặc chuyển phương pháp thăm dò chức năng hô hấp khác nếu đo thất bại hoặc không rõ ràng
Ghi chép sổ nhật ký bệnh nhân và nhật ký vận hành máy vào cuối buổi làm việc	



6.2. Nhận định kết quả

Các bước đọc kết quả CNTK, xem đường nét đường cong lưu lượng - thể tích: Đạt 7 tiêu chuẩn:

- Đối tượng hiểu được các chỉ dẫn thực hiện
- Hít vào: được thực hiện với gắng sức cao nhất
- Thở ra: trôi chảy và liên tục ĐỌC KẾT QUẢ CNTK

- Khi thở ra có gắng sức cao nhất (có peak)
- Thời gian thở ra kéo dài tối thiểu 6 giây (trẻ em tối thiểu 3 giây)
- Tiêu chuẩn kết thúc đo: đường cong lưu lượng thở ra có bình nguyên kéo dài 1 giây
- Việc bắt đầu đo có thỏa đáng không
- Đạt 3 yếu tố lặp lại:
- Sự chênh lệch giữa FVC lớn nhất và thứ hai nhỏ hơn 150ml (hoặc 100ml khi FVC < 1.0L)
- Sự chênh lệch giữa FEV1 lớn nhất và thứ hai nhỏ hơn 150ml (hoặc 100ml khi FEV1 < 1.0L)
- Có bằng chứng giải thích cho việc thiếu khả năng có thể lặp lại
- Test dương tính khi: bệnh nhân có đáp ứng tốt với thuốc giãn phế quản: FEV1 cải thiện được 200 ml và 12%.
- Nếu CNHH về bình thường sau test phục hồi phế quản người bệnh được chẩn đoán là Hen phế quản.

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Graham BL, Steenbruggen I, Miller MR, et al. Standardization of Spirometry 2019 Update. An Official American Thoracic Society and European Respiratory Society Technical Statement. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Oct 15;200(8):e70-e88.
2. Boros PW, Martusewicz-Boros MM. New spirometry? The 2019 update of the test standardization. *Adv Respir Med*. 2020;88(2):95-98.
3. Stanojevic S, Kaminsky DA, Miller MR, et al. ERS/ATS technical standard on interpretive strategies for routine lung function tests. *Eur Respir J*. 2022 Jul 13;60(1):2101499.
4. Miller MR, Crapo R, Hankinson J, et al. General considerations for lung function testing. *Eur Respir J* 2005; 26:153-161.

5. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005; 26: 319-338
6. Schulze J, Smith HJ, Eichhorn C, Salzmann-Manrique E, Dreßler M, Zielen S. Correlation of spirometry and body plethysmography during exercise-induced bronchial obstruction. *Respir Med*. 2019 Mar;148:54-59.
7. Merget R, Nensa F, Heinze E, Taeger D, Bruening T. Spirometry or Body Plethysmography for the Assessment of Bronchial Hyperresponsiveness? *Adv Exp Med Biol*. 2016;921:1-10.
8. Liou TG, Kanner RE. Spirometry. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2009 Dec;37(3):137-52.
9. Nicholson PJ. The updated ATS/ERS spirometry technical standards. *Occup Med (Lond)*. 2020 May 27;70(3):146-148.
10. Coates AL, Graham BL, McFadden RG, McParland C, Moosa D, Provencher S, Road J; Canadian Thoracic Society. Spirometry in primary care. *Can Respir J*. 2013 Jan-Feb;20(1):13-21.
11. Koegelenberg CF, Swart F, Irusen EM. Guideline for office spirometry in adults, 2012. *S Afr Med J*. 2012 Sep 28;103(1):52-62.
12. Booker R. Best practice in the use of spirometry. *Nurs Stand*. 2005 Aug 10-16;19(48):49-54.

88. ĐO DUNG TÍCH SỐNG GẮNG SỨC- FVC

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

Dung tích sống thở mạnh (FVC: Forced Vital capacity) chính là dung tích sống chỉ khác là đo bằng phương pháp thở ra mạnh.

1.2.2. Nguyên lý

Bệnh nhân hít vào nhanh mạnh gắng sức tối đa và thở ra mạnh gắng sức kéo dài tối đa.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá chức năng thông khí phổi

2. CHỈ ĐỊNH

- Chẩn đoán hen phế quản
- Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính
- Nhiễm khuẩn đường hô hấp
- Viêm phế quản có tăng bạch cầu ái toan
- Bệnh dị ứng: VMDU, Eczema, Atopy

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Nhiễm trùng đường hô hấp cấp
- Ho ra máu không rõ nguyên nhân
- Phình động mạch chủ ngực, chủ bụng
- Vừa mới qua đợt cấp bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD), hen dưới 6 tuần
- Nhồi máu cơ tim, phẫu thuật mắt, bụng, ngực dưới 3-6 tháng
- Đau ngực không rõ chẩn đoán
- Đau thắt ngực không ổn định trong 24 giờ
- Lao phổi tiến triển

4. THẬN TRỌNG

Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Natriclorid 0.9 % 500 ml
- Salbutamol 100mcg (200 liều) (hộp xịt) (1 hộp dùng được 40 BN)
- Nước cất 2 lần

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Dây kết nối máy đo và hệ thống cảm biến (sử dụng trong vòng 6 tháng)
- Thước đo
- Cân điện tử
- Đồng hồ bấm giờ
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Kẹp mũi
- Phin lọc khuẩn dùng cho máy đo chức năng hô hấp
- Buồng đệm
- Cảm biến phân tích O₂
- Van bong bóng GEM xanh
- Gạc tiểu phẫu 6cm x10cm x12 L
- Khẩu trang N95 (1 người, 2 cái/ ngày)
- Pin tiểu AAA - dùng cho cân điện tử
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Hệ thống máy phé thân kế (Body Box) gồm buồng đo cùng cảm biến áp suất, máy tính, máy in, phần mềm đo và lưu giữ kết quả,...
- Bơm định chuẩn: Xilanh 3 lít
- Bình hỗn hợp khí: He-CO-Nito-oxy
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế

- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

Người bệnh được hướng dẫn chi tiết mục đích của kỹ thuật và các bước tiến hành

- Thu thập chiều cao và cân nặng
- Tuổi tại ngày xét nghiệm
- Người bệnh nghỉ ngơi trước khi đo 15 phút.
- Không vận động gắng sức trước đo 1 - 2 giờ
- Ghi nhận thuốc dùng .
- Ghi lại thời điểm gần nhất bệnh nhân dùng thuốc giãn phế quản.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Test tối đa: 10 phút
- Tạo 1 trường bệnh nhân mới
- Chọn Testing > Forced Vital Capacity
- Xuất hiện màn hình với các trục của đường cong lưu lượng - thể tích, đường cong thể tích - thời gian; biểu đồ FVC
- Lựa chọn Start Test > Standard
- Khi bệnh nhân ngậm kín ống đo, nhấn phím “ Space bar” hoặc chọn Start để bắt đầu đo
- Bệnh nhân hít thở bình thường 2-4 lần
- Tiếp theo yêu cầu bệnh nhân hít vào hết sức rồi thổi ra thật nhanh, mạnh, dài cho đến ít nhất 6s
- Yêu cầu bệnh nhân hít vào hết sức, sau khi đã thổi ra thật hết sức. Nhấn “Space Bar” để kết thúc phép đo
- Thực hiện đo 3 lần, mỗi lần nghỉ 2 phút

6.2. Nhận định kết quả

a. Tiêu chuẩn kết thúc Test

- Quan sát có bình nguyên 1 giây trên đường cong thể tích- thời gian..
- Thời gian thở ra tối thiểu
- Sáu giây (3s ở trẻ em dưới 10 tuổi).

b. Tiêu chuẩn lặp lại

- Có ít nhất 3 đường cong đạt các tiêu chuẩn chấp nhận để kết thúc Test
- Chênh lệch giữa 2 kết quả có FVC cao nhất ít hơn 150 ml (< 100 ml khi $FVC < 1$ L).

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Graham BL, Steenbruggen I, Miller MR, et al. Standardization of Spirometry 2019 Update. An Official American Thoracic Society and European Respiratory Society Technical Statement. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Oct 15;200(8):e70-e88
2. Boros PW, Martusewicz-Boros MM. New spirometry? The 2019 update of the test standardization. *Adv Respir Med*. 2020;88(2):95-98
3. Stanojevic S, Kaminsky DA, Miller MR, et al. ERS/ATS technical standard on interpretive strategies for routine lung function tests. *Eur Respir J*. 2022 Jul 13;60(1):2101499
4. Miller MR, Crapo R, Hankinson J, et al. General considerations for lung function testing. *Eur Respir J* 2005; 26:153-161
5. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005; 26: 319-338
6. Schulze J, Smith HJ, Eichhorn C, Salzmann-Manrique E, Dreßler M, Zielen S. Correlation of spirometry and body plethysmography during exercise-induced bronchial obstruction. *Respir Med*. 2019 Mar;148:54-59

7. Merget R, Nensa F, Heinze E, Taeger D, Bruening T. Spirometry or Body Plethysmography for the Assessment of Bronchial Hyperresponsiveness? *Adv Exp Med Biol.* 2016;921:1-10
8. Liou TG, Kanner RE. Spirometry. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2009 Dec;37(3):137-52
9. Nicholson PJ. The updated ATS/ERS spirometry technical standards. *Occup Med (Lond).* 2020 May 27;70(3):146-148
10. Coates AL, Graham BL, McFadden RG, McParland C, Moosa D, Provencher S, Road J; Canadian Thoracic Society. Spirometry in primary care. *Can Respir J.* 2013 Jan-Feb;20(1):13-21
11. Koegelenberg CF, Swart F, Irusen EM. Guideline for office spirometry in adults, 2012. *S Afr Med J.* 2012 Sep 28;103(1):52-62
12. Booker R. Best practice in the use of spirometry. *Nurs Stand.* 2005 Aug 10-16;19(48):49-54

89. ĐO THÔNG KHÍ TỰ NGUYÊN TỐI ĐA - MVV

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.2.1. Định nghĩa

MVV (đo thông khí tự nguyên tối đa): là phép đo sức bền đường thở được kéo dài ít nhất 12 giây.

1.2.2. Nguyên lý

Bệnh nhân hít thật sâu và thổi mạnh hết sức kéo dài 12 giây

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá hệ thống thần kinh cơ và hô hấp

2. CHỈ ĐỊNH

- Chẩn đoán hen phế quản
- Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính
- Nhiễm khuẩn đường hô hấp
- Viêm phế quản có tăng bạch cầu ái toan
- Bệnh dị ứng: VMDU, Eczema, Atopy

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Hen phế quản nặng
- Suy tim nặng
- Suy hô hấp
- Tăng áp động mạch phổi nhiều

4. THẬN TRỌNG

Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Natriclorid 0.9 % 500 ml
- Salbutamol 100mcg (200 liều) (hộp xịt) (1 hộp dùng được 40 BN)
- Nước cất 2 lần

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Dây kết nối máy đo và hệ thống cảm biến (sử dụng trong vòng 6 tháng)
- Thước đo
- Cân điện tử
- Đồng hồ bấm giờ
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Kẹp mũi
- Phin lọc khuẩn dùng cho máy đo chức năng hô hấp
- Buồng đệm
- Cảm biến phân tích O₂
- Van bong bóng GEM xanh
- Gạc tiểu phẫu 6cm x10cm x12 L
- Khẩu trang N95 (1 người, 2 cái/ ngày)
- Pin tiểu AAA - dùng cho cân điện tử
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Hệ thống máy phé thân kế (Body Box) gồm buồng đo cùng cảm biến áp suất, máy tính, máy in, phần mềm đo và lưu giữ kết quả,...
- Bơm định chuẩn: Xilanh 3 lít
- Bình hỗn hợp khí: He-CO-Nito-oxy
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Yêu cầu đối với bệnh nhân trước khi đo:

- + Không dùng thức ăn, đồ uống trước khi tiến hành đo ít nhất 1 - 2 giờ
- + Không hút thuốc lá, thuốc láo trước khi xét nghiệm ít nhất 1 - 2 giờ
- + Không vận động gắng sức trước đo 1 - 2 giờ
- Thu thập chiều cao và cân nặng
- Tuổi tại ngày xét nghiệm
- Ghi nhận thuốc dùng
- Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc đo thông khí tự nguyện tối đa - MVV
- Ghi lại thời điểm gần nhất bệnh nhân dùng thuốc giãn phế quản
- Giải thích cho bệnh nhân về ý nghĩa và quy trình đo MVV

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

- a. Kiểm tra người bệnh: Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.
- b. Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật
- c. Tư thế bệnh nhân: Ngồi

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Thời gian để thực hiện Test tối đa: 10 phút
- Tạo 1 trường bệnh nhân mới.
- Chọn Testing > Maximum Voluntary Ventilation
- Màn hình xuất hiện test MVV, nhấn Start Test.
- Đảm bảo rằng không có luồng khí đi qua, nhấn Ok.
- Khi bệnh nhân ngậm kín ống đo, nhấn “Space bar” sau đó yêu cầu bệnh nhân thở nhanh, mạnh kéo dài ít nhất 12s.
- Test sẽ tự động kết thúc hoặc nhấn “Space bar” để dừng test.
- Nhấn Save để lưu lại phép đo.

6.2. Nhận định kết quả

Giá trị bình thường: $MVV \geq 60\%$

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Andrello AC, Donaria L, de Castro LA, Belo LF, Schneider LP, Machado FV, Ribeiro M, Probst VS, Hernandes NA, Pitta F. Maximum Voluntary Ventilation and Its Relationship With Clinical Outcomes in Subjects With COPD. *Respir Care*. 2021 Jan;66(1):79-86
2. Cid-Juárez S, Pérez-Padilla R, Torre-Bouscoulet L, Enright P, Gochicoa-Rangel L, Cortés-Medina D, Bapo-López PE, Tafolla-Manzo MV, Díaz SMG. Maximum Voluntary Ventilation in a Population Residing at 2,240 Meters Above Sea Level. *Respir Care*. 2017 Dec;62(12):1588-1593
3. Neufeld EV, Dolezal BA, Speier W, Cooper CB. Effect of altering breathing frequency on maximum voluntary ventilation in healthy adults. *BMC Pulm Med*. 2018 May 24;18(1):89
4. Cavalheri V, Hill K, Donaria L, Camillo CA, Pitta F. Maximum voluntary ventilation is more strongly associated with energy expenditure during simple activities of daily living than measures of airflow obstruction or respiratory muscle strength in patients with COPD. *Chron Respir Dis*. 2012;9(4):239-40

90. ĐO KHUẾCH TÁN PHỔI - DIFFUSION CAPACITY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

1.1.1. Định nghĩa

Là kỹ thuật đánh giá khả năng trao đổi khí qua màng phế nang mao mạch. Đo khả năng khuếch tán CO qua màng phế nang mao mạch (DLCO) là một phương pháp thăm dò chức năng hô hấp đánh giá được màng phế nang mao mạch. Phương pháp đo DLCO giúp đo lường được DLCO (có hiệu chỉnh hemoglobin), thể tích phế nang (Va) và tỷ lệ DLCO/Va.

1.1.2. Nguyên lý

Test này được xác định khi thể tích khí có thể khuếch tán dọc theo dung tích màng phế nang trên phút trên mmHg gradient áp suất. DLCO là kết quả của sự dịch chuyển khí và phản ứng hóa học giữa Hemoglobin và oxy.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá khả năng trao đổi khí tại phổi.

2. CHỈ ĐỊNH

- Đánh giá - theo dõi bệnh lý nhu mô phổi bao gồm: Xơ phổi nguyên phát (IPF, UIP, BOOP), bụi phổi Asbestos, bệnh phổi do thuốc (ví dụ Amiodarone) hoặc Sarcoidosis ở phổi.
- Đánh giá - theo dõi bệnh khí phế thũng và bệnh xơ nang và chẩn đoán phân biệt các thể bệnh COPD.
- Đánh giá các bệnh liên quan mạch máu phổi (ví dụ: tăng áp phổi nguyên phát, thuyên tắc phổi, hoặc phù phổi)
- Đánh giá tổn thương phổi trong các bệnh lý toàn thân (ví dụ: Thấp khớp, Lupus, bệnh u hạt Wegener's)
- Đánh giá ảnh hưởng trên phổi của thuốc điều trị ung thư đã biết là gây giảm chức năng phổi.
- Đánh giá xuất huyết phế nang.
- Có chỉ định sớm cho một số bệnh nhiễm trùng phổi (ví dụ viêm phổi do Pneumocystis Pneumonia)
- Lượng giá mức độ tàn phế
- Chuẩn bị phẫu thuật cắt phổi

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có dữ liệu hiện tại nào đề cập tới chống chỉ định của DLCO. Xét về lý thuyết, đo khả năng khuếch tán với CO chỉ yêu cầu nghiệm pháp một hơi thở với thời gian nín thở ngắn, do đó không gây ra tác hại nào trên đối tượng thực hiện. Tuy nhiên, nghiệm pháp có thể không phù hợp ở một vài bệnh nhân, như:

- Bệnh nhân giảm oxy máu nặng, phải thở oxy vĩnh viễn
- Trẻ nhỏ hoặc bệnh nhân lớn tuổi không thể thực hiện nghiệm pháp nín thở

4. THẬN TRỌNG

Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Natriclorid 0.9 % 500 ml
- Salbutamol 100mcg (200 liều) (hộp xịt) (1 hộp dùng được 40 BN)
- Nước cất 2 lần

5.3. Vật tư

5.3.1. Dụng cụ

- Dây kết nối máy đo và hệ thống cảm biến (sử dụng trong vòng 6 tháng)
- Thước đo
- Cân điện tử
- Đồng hồ bấm giờ
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2. Vật tư tiêu hao

- Kẹp mũi
- Phin lọc khuẩn dùng cho máy đo chức năng hô hấp
- Bông đệm
- Cảm biến phân tích O₂
- Van bong bóng GEM xanh
- Gạc tiểu phẫu 6cm x10cm x12 L
- Khẩu trang N95 (1 người, 2 cái/ ngày)
- Pin tiểu AAA - dùng cho cân điện tử
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ

- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Hệ thống máy phế thân kế gồm buồng đo cùng cảm biến áp suất, máy tính, máy in, phần mềm đo và lưu giữ kết quả,...
- Bơm định chuẩn: Xilanh 3 lít
- Bình hỗn hợp khí: He-CO-Nito-oxy
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được hướng dẫn chi tiết mục đích của kỹ thuật và các bước tiến hành
- Thu thập chiều cao và cân nặng
- Tuổi tại ngày xét nghiệm
- Người bệnh nghỉ ngơi trước khi đo 15 phút.
- Không vận động gắng sức trước đo 1 - 2 giờ
- Ghi nhận thuốc dùng.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

6.1.1. Thêm mới

- Nhấp chọn “New Patient”
- Điền đầy đủ các thông tin: ID, tên người bệnh, ngày, giờ đo CNHH, chiều cao (điền cm vào cột cm); cân nặng (điền kg vào cột có kg), giới tính, Race (chọn asian), tên người đo, tên người đọc kết quả, tiền sử hút thuốc (bao-năm), chẩn đoán
- Nhấp chọn “Save” để lưu thông tin.

6.1.2. Chuẩn bị người bệnh

- Người bệnh được ngồi vào ghế trong buồng đo
- Điều chỉnh ghế ngồi và đầu đo phù hợp với người bệnh, sao cho lưng và cổ người bệnh thẳng
- Hướng dẫn người bệnh động tác thực hiện đo DLCO. Lưu ý người bệnh có động tác máy bơm khí sau khi người bệnh thở ra hết sức
- Kẹp mũi cho người bệnh, hướng dẫn ngậm chặt ống ngậm

6.1.3. Tiến hành đo

- Kiểm tra các chống chỉ định của đo chức năng hô hấp
- Nhấp “Go To” => chọn “Diffusion Capacity”
- Nhấp chọn “Start test” => nhấp chọn “DLCO only”
- Xuất hiện màn hình “Correction Factors” với các thông số cần điều chỉnh: Hemoglobin, CarboxyHemoglobin, Filter Dead Space => điền Hemoglobin (công thức máu) thực của người bệnh, sau đó nhấp “OK”
- Xuất hiện màn hình “Start Test”. Nhắc người bệnh ngậm kín miệng ống thổi và hít thở bình thường, sau đó nhấp chọn “Start” và bắt đầu đo
- Trên màn hình sẽ xuất hiện biểu đồ thở của người bệnh có hình Sin
- Khi thấy người bệnh hít vào thở ra bình thường, biểu đồ thở ổn định: yêu cầu người bệnh hít vào chậm, rồi thở ra chậm và dài cho đến khi thật hết sức
- Khi đã thấy người bệnh thở ra thật hết sức, đường thở ra đi ngang => nhấp “Space bar” và yêu cầu người bệnh hít vào (lúc này máy sẽ bơm thẳng ngay một lượng khí vào mồm người bệnh)
- Yêu cầu người bệnh hít vào hết sức (xuất hiện đường trục đứng đứt đoạn màu đỏ 1, có hai đường chạy ngang, đường màu xanh là đường nồng độ khí CO, và đường màu đỏ là đường biểu thị nhịp thở của người bệnh) và sau đó nín thở trong 10 giây cho đến khi xuất hiện đường trục đứng đứt đoạn màu đỏ 2 thì yêu cầu người bệnh thở ra thật hết và nhấp “Space bar” để kết thúc phép đo
- Để người bệnh nghỉ 5 phút thực hiện lại phép đo

Chú ý: khi hít vào hết sức người bệnh không thể nín thở được (đường khí của người bệnh đi xuống) nhấn V

6.1.4. Tiêu chuẩn chấp nhận được:

- Giá trị VI (Inspiration volume) của > 85% giá trị VC lớn nhất đạt được trong < 4 giây
- Nín thở ổn định trong 10 ± 2 giây. Không có bằng chứng của rò khí, nghiệm pháp Valsava hoặc nghiệm pháp Mueller
- Thời gian thở ra < 4 giây
- Giá trị VI phải $\geq 85\%$ giá trị VC lớn nhất đã đo trước đó. VI nhỏ hơn VC có thể do hai trường hợp:

+ Bệnh nhân thở ra không tới tối đa (không tới RV) trước khi hít khí test: giá trị VA (alveolar volume) và DLCO sẽ phản ánh chính xác thể tích phổi và khả năng khuếch tán CO của phổi ở mức TLC.

+ Bệnh nhân hít vào không tới tối đa (không tới TLC) khi đang hít khí test: giá trị VA sẽ giảm và giá trị DLCO sẽ bị ảnh hưởng

- 85% VI phải được hít vào trong < 4 giây

6.1.5. Chọn và in kết quả tốt nhất.

6.2. Nhận định kết quả

- Đánh giá chất lượng đo: tiêu chuẩn chất lượng kết quả đo cần đạt:

+ SOT(+), MP(+), DRP(+), BHT(+).

+ Kết quả của 3 lần đo chênh nhau không quá 5%.

+ Trong trường hợp đo không đạt: cần tiến hành đo lại.

- Nhận định kết quả

+ Hội chứng hạn chế: Có/không, mức độ

+ Hội chứng tắc nghẽn: có/không ứ khí/bẫy khí, căng phình phổi, mức độ

+ Đáp ứng thuốc dẫn phế quản: có/không

+ Tăng kháng lực đường dẫn khí: có/không, mức độ

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Enright Md P. Office-based DLCO tests help pulmonologists to make important clinical decisions. *Respir Investig*. 2016 Sep;54(5):305-11

2. Kirla KT, Nemes S, Betts J, Kristensson C, Mo J, Asimus S, Sadiq MW, Redlich E, Koernicke T, Fuhr R, Brailsford W, Keen C, Hagberg A, Mäenpää J. Diurnal variation in DLCO and non-standardized study procedures may cause a false positive safety signal in clinical trials. *Respir Med*. 2022 Jan;191:106705

3. Graham BL, Brusasco V, Burgos F, Cooper BG, Jensen R, Kendrick A, MacIntyre NR, Thompson BR, Wanger J. 2017 ERS/ATS standards for single-breath carbon monoxide uptake in the lung. *Eur Respir J*. 2017 Jan 3;49(1):1600016

4. Beretta E, Lanfranconi F, Grasso GS, Bartesaghi M, Alemayehu HK, Miserocchi G. Reappraisal of DLCO adjustment to interpret the adaptive response of the air-blood barrier to hypoxia. *Respir Physiol Neurobiol*. 2017 Apr;238:59-65
5. Hegewald MJ. Diffusing capacity. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2009 Dec;37(3):159-66
6. Sivova N, Launay D, Wémeau-Stervinou L, De Groote P, Remy-Jardin M, Denis G, Lambert M, Lamblin N, Morell-Dubois S, Fertin M, Lefevre G, Sobanski V, Le Rouzic O, Hatron PY, Wallaert B, Hachulla E, Perez T. Relevance of partitioning DLCO to detect pulmonary hypertension in systemic sclerosis. *PLoS One*. 2013 Oct 18;8(10):e78001
7. Shi H, Gao P, Liu H, Su J, He X. Diagnostic value of combined FVC%/DLCO% and echocardiography in connective tissue disorder-associated pulmonary hypertension. *Med Int (Lond)*. 2024 Jan 5;4(1):8
8. Yokoba M, Ichikawa T, Harada S, Shiomi K, Mikubo M, Ono M, Sonoda D, Satoh Y, Hanawa H, Naoki K, Katagiri M. Comparison between quantitative computed tomography, scintigraphy, and anatomical methods for prediction of postoperative FEV(1) and DLCO: effects of chronic obstructive pulmonary disease status and resected lobes. *J Thorac Dis*. 2020 Oct;12(10):5269-5280

91. ĐO CÁC THỂ TÍCH PHỔI - LUNG VOLUMES

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

Phế thân ký (Body Plethysmography) là một phương pháp thăm dò chức năng hô hấp toàn diện. Phế thân ký giúp đo lường các thể tích phổi: tổng dung lượng phổi (TLC), dung tích cặn chức năng (FRC), thể tích khí cặn (RV) và tỷ lệ RV/TLC. Đồng thời phế thân ký còn đo lường kháng lực đường dẫn khí (RAW)

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Đánh giá thông khí phế nang

2. CHỈ ĐỊNH

- Chẩn đoán bệnh phổi hạn chế
- Chẩn đoán và theo dõi bệnh phổi kẽ
- Phân biệt rõ hội chứng tắc nghẽn và hội chứng hạn chế trên kết quả hô hấp ký
- Theo dõi ảnh hưởng của các bệnh lý khác lên đường hô hấp: Bệnh thần kinh cơ (hội chứng Guillain-Barre, nhược cơ, viêm tủy lan lên), các bệnh mô liên kết (Lupus ban đỏ, xơ cứng bì, Viêm đa khớp dạng thấp, Viêm da cơ,...).
- Theo dõi hiệu quả của các phương pháp dự phòng và điều trị bệnh (vật lý trị liệu, phục hồi chức năng).
- Giám định thương tật, suy giảm chức năng hô hấp (CNHH).
- Theo dõi ảnh hưởng của môi trường gây bệnh phổi nghề nghiệp, của xạ trị hay của thuốc độc đến đường hô hấp.
- Đánh giá chức năng hô hấp trước phẫu thuật ngực, bụng và lượng giá kết quả sau khi phẫu thuật đường hô hấp.
- Tầm soát các đối tượng có nguy cơ cao: hút thuốc, tiếp xúc với không khí ô nhiễm.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Đang có nhiễm trùng đường hô hấp: Lao phổi, Covid-19,...
- Ho máu không rõ nguyên nhân.
- Tràn khí màng phổi.
- Tình trạng tim mạch không ổn định.
- Nhồi máu cơ tim và tai biến mạch não mới.
- Người bệnh không hợp tác.
- Người bệnh mắc chứng sợ không gian hẹp
- Người bệnh có các thiết bị không vừa trong buồng phế thân ký hoặc có thể làm thay đổi áp suất trong buồng (như có ống dẫn lưu màng phổi, mở khí quản, thủng màng nhĩ,...)
- Điều trị oxy liên tục không ngừng tạm thời được

4. THẬN TRỌNG

Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Natriclorid 0.9 % 500 ml
- Salbutamol 100mcg (200 liều) (hộp xịt) (1 hộp dùng được 40 BN)
- Nước cất 2 lần

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Dây kết nối máy đo và hệ thống cảm biến (sử dụng trong vòng 6 tháng)
- Thước đo
- Cân điện tử
- Đồng hồ bấm giờ
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Kẹp mũi
- Phin lọc khuẩn dùng cho máy đo chức năng hô hấp
- Buồng đệm
- Cảm biến phân tích O₂
- Van bong bóng GEM xanh
- Gạc tiểu phẫu 6cm x10cm x12 L
- Khẩu trang N95 (1 người, 2 cái/ ngày)
- Pin tiểu AAA - dùng cho cân điện tử
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Hệ thống máy phế thân kế (Body Box) gồm buồng đo cùng cảm biến áp suất, máy tính, máy in, phần mềm đo và lưu giữ kết quả,...
- Bơm định chuẩn: Xilanh 3 lít
- Bình hỗn hợp khí: He-CO-Nito-oxy
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được hướng dẫn chi tiết mục đích của kỹ thuật và các bước tiến hành
- Thu thập chiều cao và cân nặng
- Tuổi tại ngày xét nghiệm
- Người bệnh nghỉ ngơi trước khi đo 15 phút.
- Không vận động gắng sức trước đo 1 - 2 giờ
- Ghi nhận thuốc dùng.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Ngồi

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

6.1.1. Định chuẩn máy

- Khởi động máy
- Định chuẩn thể tích bằng bơm 3L
- Định chuẩn buồng phế thân ký
- + Định chuẩn đầu dò áp lực miệng
- + Định chuẩn áp lực buồng qua tuyến tính thể tích áp lực buồng

- + Tần suất: mỗi ngày hoặc khi tiến hành đo
- Định chuẩn sinh học: Đo người khỏe mạnh, không hút thuốc lá. Lỗi khi:
- + Giá trị đo được chênh lệch gấp # 2 lần tiêu chuẩn lặp lại được so với giá trị đo được trước đó
- + FRC hoặc TLC chênh lệch > 10%
- + RV chênh lệch > 20%

6.1.2. Tiến hành đo

- Điền thông tin người bệnh
- + Nhấp chọn “New Patient”.
- + Điền đầy đủ các thông tin: ID, họ tên người bệnh, ngày, giờ đo chức năng hô hấp, chiều cao (điền cm vào cột cm); cân nặng (điền kg vào cột có kg), giới tính, chủng tộc (chọn asian), tên người đo, tên người đọc kết quả, tiền sử hút thuốc (bao-năm), chẩn đoán.
- + Nhấp chọn “Save” để lưu thông tin.
- Chuẩn bị người bệnh
- + Người bệnh sau khi đã hoàn tất phần điền các phiếu tự đánh giá trước khi đo CNHH, sẽ được đưa vào buồng đo phế thân ký.
- + Người bệnh được ngồi vào ghế trong buồng đo.
- + Điều chỉnh ghế ngồi và đầu đo phù hợp với người bệnh, sao cho lưng và cổ người bệnh thẳng.
- + Người bệnh được kẹp mũi, hướng dẫn ngậm chặt ống ngậm
- + Hướng dẫn người bệnh động tác thực hiện đo TLC, có thể yêu cầu người bệnh làm thử trước. Yêu cầu của động tác thở trong khi đo TLC: hai tay ép nhẹ hai bên má (nhằm hạn chế di động của má), thở ra, hít vào đều đặn với tần số 30-60 lần/ phút. Nhắc người bệnh tiếp tục thở ngay cả khi có cảm giác tắc ống thổi.
- Tiến hành đo
- + Nhấp “Go To” => chọn “Plethysmography”
- + Nhấp chọn “Start Test” => chọn “Lung Volumes”
- + Xuất hiện màn hình với thông báo nhắc “Pneumotach Offset”
- + Nhắc người bệnh không ngậm ống, sau đó nhấp “OK”
- + Xuất hiện màn hình nhắc tiếp theo => đóng kín cửa buồng đo cho đến khi nghe thấy hai tiếng “Cạch” tương ứng với phía trên và dưới cửa buồng đo
- + Yêu cầu người bệnh ngậm kín ống thổi
- + Nhấp “Start” và tiến hành đo
- + Yêu cầu người bệnh hít thở đều (thông thường từ 3-10 nhịp) để thể tích cuối kỳ thở ra ổn định, trên màn hình xuất hiện biểu đồ nhịp thở có hình Sin. Nếu thấy biểu đồ này chưa đều có thể nhấp phím chữ “E” trên bàn phím để thực hiện lại

- + Tiếp tục thở đều cho đến khi xuất hiện đường dọc đứng dứt đoạn màu xanh thì nhấp “Space bar” lần 1. Nhắc người bệnh tiếp tục thở đều cho đến khi xuất hiện trục dọc đứng dứt đoạn màu xanh thứ hai. Lúc này yêu cầu người bệnh hít vào chậm và hết sức, sau đó thở ra chậm và hết sức. Khi thấy người bệnh đã thở ra hết sức, nhắc người bệnh hít vào và bấm “Space bar” => kết thúc phép đo
- + Phép đo đạt yêu cầu khi thấy đồng thời: FRC(+), VTG(+), SVC(+)
- + Thực hiện đo 3-8 lần, khi thấy 3 kết quả có FRC không sai khác nhau quá 10% là phép đo đã hoàn tất tốt
- + Chọn và in kết quả tốt nhất
- + Kết thúc phép đo TLC

6.2. Nhận định kết quả

- Hội chứng hạn chế: có/không, mức độ
- Hội chứng tắc nghẽn: có/không, ứ khí/bẫy khí, căng phình phổi, mức độ
- Đáp ứng thuốc giãn phế quản: có/không
- Tăng kháng lực đường dẫn khí: có/không, mức độ

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Criée, C., Sorichter, S., Smith, H., Kardos, P., Merget, R., Heise, D., et al. (2011), "Body plethysmography-its principles and clinical use". Respiratory medicine, 105(7), 959-971.
2. Madhavan G. Plethysmography. Biomed Instrum Technol. 2005 Sep-Oct;39(5):367-71.
3. Stucky F, Cazzaniga G, Aliverti A, Kayser B, Uva B. Automating the correction of flow integration drift during whole-body plethysmography. Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc. 2020 Jul;2020:5-8.
4. Zysman-Colman Z, Lands LC. Whole Body Plethysmography: Practical Considerations. Paediatr Respir Rev. 2016 Jun;19:39-41.

5. Schulze J, Smith HJ, Eichhorn C, Salzmann-Manrique E, Dreßler M, Zielen S. Correlation of spirometry and body plethysmography during exercise-induced bronchial obstruction. *Respir Med*. 2019 Mar;148:54-59.
6. Merget R, Nensa F, Heinze E, Taeger D, Bruening T. Spirometry or Body Plethysmography for the Assessment of Bronchial Hyperresponsiveness? *Adv Exp Med Biol*. 2016;921:1-10.
7. Schneider A, Schwarzbach J, Faderl B, Hautmann H, Jörres RA. Whole-Body Plethysmography in Suspected Asthma: A Prospective Study of Its Added Diagnostic Value in 302 Patients. *Dtsch Arztebl Int*. 2015 Jun 12;112(24):405-11.
8. Borg BM, Thompson BR. The measurement of lung volumes using body plethysmography: a comparison of methodologies. *Respir Care*. 2012 Jul;57(7):1076-83.

92. ĐO BIẾN ĐỔI THỂ TÍCH TOÀN THÂN - BODY PLETHYSMOGRAPHY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

Phế thân ký (Body Plethysmography) là một phương pháp thăm dò chức năng hô hấp toàn diện. Phế thân ký giúp đo lường các thể tích phổi: tổng dung lượng phổi (TLC), dung tích cặn chức năng (FRC), thể tích khí cặn (RV) và tỷ lệ RV/TLC. Đồng thời phế thân ký còn đo lường kháng lực đường dẫn khí (RAW).

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Chẩn đoán và theo dõi đánh giá mức độ nặng nhẹ của các bệnh lý hô hấp. Kỹ thuật giúp ghi lại những thông số liên quan đến hoạt động của phổi, từ đó giúp đánh giá hai hội chứng rối loạn thông khí: Tắc nghẽn và hạn chế.

2. CHỈ ĐỊNH

- Chẩn đoán và theo dõi bệnh phổi hạn chế
- FVC hoặc VC giảm trên hô hấp ký
- Lượng giá bệnh phổi tắc nghẽn như Hen phế quản, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính...
- Chẩn đoán và theo dõi bệnh phổi kẽ
- Chẩn đoán và theo dõi bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính.
- Phân biệt rõ hội chứng tắc nghẽn và hội chứng hạn chế trên kết quả hô hấp ký
- Theo dõi ảnh hưởng của các bệnh lý khác lên đường hô hấp: Bệnh thần kinh cơ (hội chứng Guillain-Barre, nhược cơ, viêm tủy lan lên), các bệnh mô liên kết (lupus ban đỏ, xơ cứng bì, viêm đa khớp dạng thấp, viêm da cơ,...).
- Theo dõi hiệu quả của các phương pháp dự phòng và điều trị bệnh, phục hồi chức năng.
- Giám định y khoa, giám định thương tật, suy giảm chức năng hô hấp (CNHH).
- Theo dõi ảnh hưởng của môi trường gây bệnh phổi nghề nghiệp, của xạ trị hay của thuốc độc đến đường hô hấp.
- Đánh giá chức năng hô hấp trước phẫu thuật và lượng giá kết quả sau khi phẫu thuật lồng ngực.
- Bất thường về thành ngực và cột sống.
- Lượng giá sức cản đường dẫn khí và giới hạn lưu lượng khí
- Theo dõi tiến trình bệnh và đáp ứng với điều trị
- Xác định đáp ứng thuốc dẫn phế quản, tăng phản ứng phế quản
- Tầm soát các đối tượng có nguy cơ cao: hút thuốc, tiếp xúc với không khí ô nhiễm.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Đang có nhiễm trùng cấp: lao phổi, Covid 19...

- Hô máu không rõ nguyên nhân.
- Tràn khí màng phổi.
- Tình trạng tim mạch không ổn định.
- Nhồi máu cơ tim và tai biến mạch não mới.
- Người bệnh không hợp tác.
- Người bệnh mắc chứng sợ không gian hẹp
- Người bệnh có các thiết bị không vừa trong buồng phế thân ký hoặc có thể làm thay đổi áp suất trong buồng (như có ống dẫn lưu màng phổi, mở khí quản, thùng màng nhĩ,..)
- Điều trị oxy liên tục không ngừng tạm thời được

4. THẬN TRỌNG

Phụ nữ có thai

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người.
- Kỹ thuật y: 02 người.

5.2. Thuốc, hóa chất

- Natriclorid 0.9 % 500 ml
- Salbutamol 100mcg (200 liều) (hộp xịt) (1 hộp dùng được 40 BN)
- Nước cất 2 lần

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Dây kết nối máy đo và hệ thống cảm biến (sử dụng trong vòng 6 tháng)
- Thước đo
- Cân điện tử
- Đồng hồ bấm giờ
- Nhiệt kế, ẩm kế

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Kẹp mũi
- Phin lọc khuẩn dùng cho máy đo chức năng hô hấp
- Buồng đệm
- Cảm biến phân tích O₂
- Van bong bóng GEM xanh
- Gạc tiêu phẫu 6cm x10cm x12 L

- Khẩu trang N95 (1 người, 2 cái/ ngày)
- Pin tiểu AAA - dùng cho cân điện tử
- Găng tay xử lý dụng cụ
- Bông, gạc sát khuẩn, băng cá nhân
- Khăn giấy lau tay
- Dung dịch làm sạch, tẩy rửa dụng cụ y tế
- Dung dịch sát khuẩn tay
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Dung dịch xà phòng rửa tay trung tính

5.4. Trang thiết bị

- Hệ thống máy phé thân kế gồm buồng đo cùng cảm biến áp suất, máy tính, máy in, phần mềm đo và lưu giữ kết quả,...
- Bơm định chuẩn: Xilanh 3 lít
- Bình hỗn hợp khí: He-CO-Nito-oxy
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Người bệnh được hướng dẫn chi tiết mục đích của kỹ thuật và các bước tiến hành
- Thu thập chiều cao và cân nặng
- Tuổi tại ngày xét nghiệm
- Người bệnh nghỉ ngơi trước khi đo 15 phút.
- Không vận động gắng sức trước đo 1 - 2 giờ
- Ghi nhận thuốc dùng .

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định xét nghiệm

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng thực hiện kỹ thuật

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. Kiểm tra người bệnh: Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật

c. Tư thế bệnh nhân: Ngồi

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

6.1.1. Định chuẩn máy

- Khởi động máy
- Định chuẩn thể tích bằng bơm 3L
- Định chuẩn buồng phế thân ký
- + Định chuẩn đầu dò áp lực miệng
- + Định chuẩn áp lực buồng qua tuyến tính thể tích áp lực buồng
- + Tần suất: mỗi ngày hoặc khi tiến hành đo
- Định chuẩn sinh học: Đo người khỏe mạnh, không hút thuốc lá. Lỗi khi:
 - + Giá trị đo được chênh lệch gấp # 2 lần tiêu chuẩn lặp lại được so với giá trị đo được trước đó
 - + FRC hoặc TLC chênh lệch > 10%
 - + RV chênh lệch > 20%

6.1.2. Chuẩn bị người bệnh

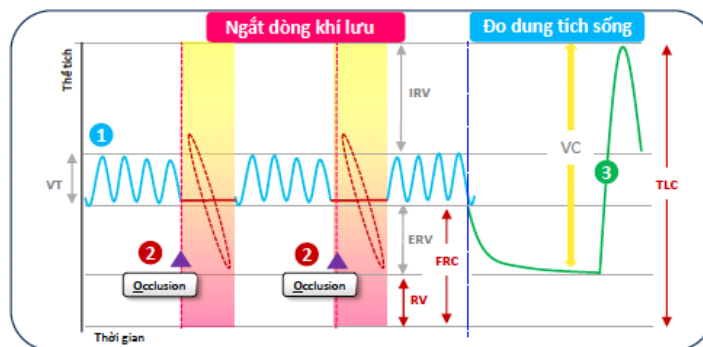
- Người bệnh sau khi đã hoàn tất phần điền các phiếu tự đánh giá trước khi đo, sẽ được đưa vào buồng đo phế thân ký.
- Người bệnh được ngồi vào ghế trong buồng đo. Điều chỉnh ghế ngồi và đầu đo phù hợp với người bệnh, sao cho lưng và cổ người bệnh thẳng.
- Người bệnh được kẹp mũi, hướng dẫn ngậm chặt ống ngậm
- Hướng dẫn người bệnh động tác thực hiện đo TLC, có thể yêu cầu người bệnh làm thử trước. Yêu cầu của động tác thở trong khi đo TLC: hai tay ép nhẹ hai bên má (nhằm hạn chế di động của má), thở ra, hít vào đều đặn với tần số 30-60 lần/ phút. Nhắc người bệnh tiếp tục thở ngay cả khi có cảm giác tắc ống thổi.

6.1.3. Tiến hành đo

Thứ tự đo các nghiệm pháp đo theo mức độ gắng sức tăng dần: VC, DLCO, TLC, RAW, DLCO lần 2, FVC

BƯỚC	NỘI DUNG
Đánh giá chỉ định, chống chỉ định và phiếu đóng tiền	- Nhận định lý cần đo phế thân ký, sức cản đường dẫn khí
	- Ghi nhận các chống chỉ định khác nếu có
	- Viết giấy từ chối đo và hẹn đo lại nếu có chống chỉ định
Tạo lập thông tin bệnh nhân	- Họ tên người bệnh, mã số
	- Giới tính, chiều cao (đo tại phòng), bộ giá trị tham khảo GLI
	- Cân nặng, KTV đo

Chuẩn bị bệnh nhân	- Hướng dẫn người bệnh/thân nhân về quá trình đo cho bệnh nhân mới
Nghiệm pháp dung tích sống chậm (VC)	- Đo VC bệnh nhân kẹp mũi, ngậm chặt ống ngậm, hút thở nhẹ nhàng ổn định không thở hỗn hển, sau đó hút thật sâu và thở kéo dài từ từ đến hết.
Nghiệm pháp phế thân ký (TLC)	- Đóng cửa buồng đo, đợi ≥ 20 giây
	- Bệnh nhân kẹp mũi, ngậm chặt ống ngậm $\Rightarrow$ thở TV ổn định (không thở hỗn hển) $\Rightarrow$ Cuối thì thở ra nhẹ nhàng $\Rightarrow$ Đóng màn chấp $\Rightarrow$ Bệnh nhân vẫn duy trì nhịp thở nhẹ nhàng $\Rightarrow$ màn chấp mở sau 1 nhịp thở $\Rightarrow$ Bệnh nhân tiếp tục thở đều 3 - 4 nhịp $\Rightarrow$ thực hiện lặp lại 3 - 5 lần đóng màn chấp $\Rightarrow$ kết thúc bằng nghiệm pháp VC
	- Đo ít nhất 3 kết quả đạt chất lượng
	- Báo cáo giá trị FRC_{pleth} trung bình
Nghiệm pháp đáp ứng với thuốc giãn phế quản (+/-)	- Thuốc GPQ: Salbutamol 4 nhát (tương ứng 400 mcg salbutamol)
	- Đường dùng: trực tiếp hoặc qua buồng đệm
	- Thời gian chờ 15 - 20 phút
	- Thực hiện lại các nghiệm pháp: VC, TLC, RAW, FVC
Trả kết quả	- Chọn lựa biểu mẫu trả kết quả
	- Kiểm tra thông tin bệnh nhân và kết quả đo
	- Phân tích kết quả cho các trường hợp chỉ định ngoài
	- Hướng dẫn bệnh nhân quay về BS chỉ định
	- Cân nhắc việc đo thêm hoặc chuyển phương pháp TDCNHH khác nếu đo thất bại hoặc không rõ ràng
Ghi chép sổ nhật ký bệnh nhân và nhật ký vận hành máy vào cuối buổi làm việc	



6.2. Nhận định kết quả

Các bước đọc kết quả chức năng thông khí:

- Xem đường nét đường cong lưu lượng - thể tích: Đạt 7 tiêu chuẩn:
- + Đối tượng hiểu được các chỉ dẫn thực hiện
- + Hít vào: được thực hiện với gắng sức cao nhất
- + Thở ra: trôi chảy và liên tục
- + Khi thở ra có gắng sức cao nhất (có peak)
- + Thời gian thở ra kéo dài tối thiểu 6 giây (trẻ em tối thiểu 3 giây)
- + Tiêu chuẩn kết thúc đo: đường cong lưu lượng thở ra có bình nguyên kéo dài 1 giây
- + Việc bắt đầu đo có thỏa đáng không
- + Đạt 3 yếu tố lặp lại:
 - ✓ Sự chênh lệch giữa FVC lớn nhất và thứ hai nhỏ hơn 150ml (hoặc 100ml khi FVC < 1.0L)
 - ✓ Sự chênh lệch giữa FEV1 lớn nhất và thứ hai nhỏ hơn 150ml (hoặc 100ml khi FEV1 < 1.0L)
 - ✓ Có bằng chứng giải thích cho việc thiếu khả năng có thể lặp lại
- Đánh giá chức năng thông khí phổi
- + Bình thường
- + Rối loạn chức năng thông khí (tắc nghẽn, hạn chế)
- Test Beta2
- + Test dương tính khi: bệnh nhân có đáp ứng tốt với thuốc giãn phế quản: FEV1 cải thiện được 200 ml và 12 %.
- + Nếu chức năng hô hấp về bình thường sau test phục hồi phế quản người bệnh được chẩn đoán là Hen phế quản.

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện Hen cấp tính

Giải pháp: Ngừng làm test, tiến hành cấp cứu bệnh nhân

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Criée, C., Sorichter, S., Smith, H., Kardos, P., Merget, R., Heise, D., et al. (2011), "Body plethysmography-its principles and clinical use". *Respiratory medicine*, 105(7), 959-971.
2. Madhavan G. Plethysmography. *Biomed Instrum Technol*. 2005 Sep-Oct;39(5):367-71.
3. Stucky F, Cazzaniga G, Aliverti A, Kayser B, Uva B. Automating the correction of flow integration drift during whole-body plethysmography. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2020 Jul;2020:5-8.
4. Zysman-Colman Z, Lands LC. Whole Body Plethysmography: Practical Considerations. *Paediatr Respir Rev*. 2016 Jun;19:39-41.
5. Schulze J, Smith HJ, Eichhorn C, Salzmann-Manrique E, Dreßler M, Zielen S. Correlation of spirometry and body plethysmography during exercise-induced bronchial obstruction. *Respir Med*. 2019 Mar;148:54-59.
6. Merget R, Nensa F, Heinze E, Taeger D, Bruening T. Spirometry or Body Plethysmography for the Assessment of Bronchial Hyperresponsiveness? *Adv Exp Med Biol*. 2016;921:1-10.
7. Schneider A, Schwarzbach J, Faderl B, Hautmann H, Jörres RA. Whole-Body Plethysmography in Suspected Asthma: A Prospective Study of Its Added Diagnostic Value in 302 Patients. *Dtsch Arztebl Int*. 2015 Jun 12;112(24):405-11.
8. Borg BM, Thompson BR. The measurement of lung volumes using body plethysmography: a comparison of methodologies. *Respir Care*. 2012 Jul;57(7):1076-83.

93. TRUYỀN CYCLOPHOSPHAMIDE PULSE THERAPY

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

Tiêm truyền dung dịch Cyclophosphamide đường tĩnh mạch là đưa vào cơ thể người bệnh một khối lượng dung dịch và thuốc bằng đường tĩnh mạch.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Cyclophosphamide được dùng để điều trị các bệnh tự miễn và bệnh ung thư rất có hiệu quả nhưng cũng có nhiều tác dụng phụ trước mắt và lâu dài nên chỉ dùng cho những trường hợp bệnh lý nặng.

2. CHỈ ĐỊNH

- Cyclophosphamide được sử dụng trong trị liệu các bệnh tự miễn tiến triển:
 - + Viêm khớp dạng thấp
 - + Bệnh khớp vẩy nến
 - + Lupus ban đỏ hệ thống có tổn thương nội tạng nặng như viêm cầu thận tăng sinh lan tỏa, tổn thương thần kinh trung ương...
 - + Xơ cứng bì hệ thống có tổn thương phổi kẽ
 - + Viêm mạch hệ thống có tổn thương thận nặng
 - + Viêm da cơ/ viêm đa cơ có tổn thương phổi kẽ,
 - + Một số thể viêm cầu thận (kèm hội chứng thận hư)
 - + Bệnh nhược cơ nặng
 - + Thiếu máu tan huyết tự miễn
- Điều trị ức chế miễn dịch trong phác đồ chống thải ghép tạng.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Quá mẫn với thành phần của thuốc
- Suy tủy trầm trọng
- Viêm bàng quang chảy máu
- Nhiễm trùng giai đoạn hoạt động
- Người bệnh có thai và cho con bú (cần cân nhắc kỹ lợi ích và tác hại)

4. THẬN TRỌNG

- Suy giảm chức năng gan thận
- Nghi ngờ có nhiễm trùng ẩn chưa được xác định
- Phụ nữ có định sinh con trong thời gian gần

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Điều dưỡng: 01 người

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolon
- Dopamin 200 mg
- Morphin hydrochloride 0,1% - 2ml
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10 mg
- Salbutamol 0,5 mg
- Glucose 5% 500ml
- Natriclorid 0,9% 100ml
- Natriclorid 0,9% 500ml
- Thuốc chống nôn, thuốc lợi tiểu

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Kéo, băng dính
- Huyết áp, ống nghe
- Gối kê tay, dây garo, cọc truyền
- Hộp vô khuẩn đựng: gạc tam giác, gạc phủ vùng truyền, bông cầu
- Găng tay vô khuẩn
- khay quả đậu hoặc túi đựng đồ bẩn, hộp đựng vật sắc nhọn
- Xe tiêm chuyên dụng
- Lồng kính pha thuốc chuyên dụng
- Quần áo, mũ, găng, kính bảo hộ để pha thuốc

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Dung dịch khử khuẩn tẩy rửa có chứa enzym
- Dung dịch khử khuẩn tay chứa cồn
- Dung dịch khử khuẩn 2%
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 10ml

- Bơm tiêm nhựa 20ml
- Dây truyền huyết thanh
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Kim lườn Catheter
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Băng dính y tế
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Găng khám
- Mũ giấy
- Khẩu trang giấy dây buộc
- Bông hút
- Oxy
- Dây oxy
- Dây nối bơm tiêm điện
- Mask khí dung

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh liệu pháp điều trị, sự cần thiết, hiệu quả và các tác dụng không mong muốn có thể có.
- Người bệnh đồng ý tham gia liệu pháp điều trị.
- Động viên và dặn người bệnh đi đại tiểu trước khi truyền.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra y lệnh, thực hiện 5 đúng

- Kiểm tra lại xét nghiệm, đánh giá chức năng thận, tình trạng của người bệnh.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Buồng bệnh

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Điều dưỡng rửa tay độ mũ, đeo khẩu trang, mặc quần áo, đi găng tay bảo hộ
- Kiểm tra chai dịch, thuốc và bật nút chai, sát khuẩn tiến hành pha thuốc trong lồng kính chuyên dụng
- Xé túi đựng dây truyền, khóa dây truyền, cắm dây truyền vào chai dịch, treo chai dịch lên cọc truyền, đuổi hết khí trong dây truyền và khóa lại
- Điều dưỡng thay găng, đặt người bệnh nằm tư thế thuận lợi, bộc lộ vùng truyền, xác định vị trí truyền
- Đặt gối dưới vùng truyền, nẹp (nếu cần), đặt dây garo trên vị trí truyền
- Thắt dây garo, sát khuẩn vị trí truyền 2 lần cồn
- 1 tay cố định tĩnh mạch nơi truyền, 1 tay cầm Kim luồn Catheter đâm qua da một góc 15°C đến 30°C, hạ kim tiêm sát mặt da và luồn kim vào tĩnh mạch, khi thấy máu vào đốc kim tháo dây garo
- Lấp ba chạc, dây truyền
- Mở khóa cho dịch chảy, quan sát sắc mặt người bệnh
- Cố định đốc kim, đặt gạc phủ vùng truyền, cố định dây truyền, điều chỉnh tốc độ nhỏ giọt theo chỉ định. Bỏ nilon, gối kê tay và dây garo
- Tiêm thuốc chống nôn cho người bệnh
- Truyền cho người bệnh chai dịch có pha thuốc với tốc độ 60 giọt/ phút
- Tiêm thuốc lợi tiểu cho người bệnh
- Ghi phiếu tiêm truyền:
 - + Giờ bắt đầu truyền
 - + Số lượng dịch truyền
 - + Giờ kết thúc
- Dặn người bệnh những điều cần thiết trước khi rời phòng
- Theo dõi sát tình trạng người bệnh.

6.2. Nhận định kết quả

- Trong 15 phút đầu theo dõi người bệnh về sắc mặt, mạch, huyết áp, nhịp thở, vùng truyền. Nếu thấy những biểu hiện bất thường phải báo ngay cho bác sĩ biết
- Quan sát sự lưu thông của dịch
- Chai dịch pha Cyclophosphamide luôn được bảo quản tránh ánh sáng mặt trời và truyền nhanh 60giot/ phút
- Thường xuyên kiểm tra:
 - + Xem nơi truyền có phồng không
 - + Dịch chảy có bị tắc không
 - + Không khí có trong dây truyền hay không
 - + Có bị tuột dây truyền ra khỏi đốc kim không
 - + Khi còn khoảng 10 - 15ml dịch thì khóa lại, rút kim truyền hoặc thay chai khác nếu truyền tiếp.
- Đánh giá lại tình trạng người bệnh qua xét nghiệm: tế bào máu, điện giải đồ, sau truyền lần đầu 3-5 ngày và sau 2 tuần nếu điều trị lâu dài.
- Theo dõi tình trạng viêm, chảy máu của đường tiết niệu. Nếu có đái máu đại thể cần ngừng trị liệu.

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Dịch không chảy:
 - + Do mũi vát của thành kim áp sát vào thành mạch
 - + Do mạch xẹp
 - + Do tắc kim thường do cục máu đông trong lòng mạch

Giải pháp: Kiểm tra nguyên nhân và điều chỉnh kim truyền, dây truyền cho phù hợp.

- Phồng nơi tiêm: do kim truyền bị chệch khỏi lòng mạch, dịch thoát ra ngoài gây phồng nơi truyền làm cho người bệnh đau, gây hoại tử tổ chức nếu dịch truyền là ưu trương, hóa chất...

Giải pháp: Kiểm tra nguyên nhân và cầm lại đường truyền cho phù hợp.

- Người bệnh bị sốc: trong quá trình truyền dung dịch tĩnh mạch, người bệnh có thể bị sốc do phản ứng với thuốc, hoặc dịch truyền không đảm bảo. Sốc cũng có thể xảy ra nếu lượng dịch đi vào cơ thể người bệnh quá nhanh với số lượng lớn.

Giải pháp: Ngừng truyền, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Phù phổi cấp: Trong trường hợp người bệnh bị bệnh tim, phổi, khi truyền dịch với số lượng lớn, tốc độ nhanh có thể dẫn đến phù phổi cấp nguy hiểm tính mạng người bệnh.

Giải pháp: Ngừng truyền, thăm khám điều trị.

- Tắc mạch phổi: Truyền dung dịch tĩnh mạch cho người bệnh nếu không đúng qui trình kỹ thuật, không khí lọt vào trong lòng mạch gây tắc ở những vùng mạch nhỏ, não, phổi...

Giải pháp: Ngừng truyền, thăm khám điều trị.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mào đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. White B, Moore WC, Wigley FM, et al. Cyclophosphamide is associated with pulmonary function and survival benefit in patients with scleroderma and alveolitis. *Ann Intern Med.* 2000;132:947-54.
2. Teles KA, Medeiros-Souza P, Lima FAC, Araújo BG, Lima RAC. Cyclophosphamide administration routine in autoimmune rheumatic diseases: a review. *Rev Bras Reumatol Engl Ed.* 2017 Nov-Dec;57(6):596-604.
3. Dan D, Fischer R, Adler S, Förger F, Villiger PM. Cyclophosphamide: As bad as its reputation? Long-term single centre experience of cyclophosphamide side effects in the treatment of systemic autoimmune diseases. *Swiss Med Wkly.* 2014 Oct 23;144:w14030.
4. Woytala PJ, Morgiel E, Łuczak A, Czesak-Woytala K, Wiland P. The Safety of Intravenous Cyclophosphamide in the Treatment of Rheumatic Diseases. *Adv Clin Exp Med.* 2016 May-Jun;25(3):479-84.
5. Mehra S, Usdadiya JB, Jain VK, Misra DP, Negi VS. Comparing the efficacy of low-dose vs high-dose cyclophosphamide regimen as induction therapy in the treatment of proliferative lupus nephritis: a single center study. *Rheumatol Int.* 2018 Apr;38(4):557-568.

94. TRUYỀN IVIG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

Tiêm truyền dung dịch globulin miễn dịch đường tĩnh mạch (IVIG) là đưa vào cơ thể người bệnh một khối lượng dung dịch và thuốc bằng đường tĩnh mạch.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

IVIG được dùng để điều trị các bệnh dị ứng, bệnh tự miễn và bệnh lý viêm rất có hiệu quả nhưng cũng có thể gây ra một số tác dụng phụ trước mắt và lâu dài, giá thành cao nên chỉ dùng cho những trường hợp bệnh nặng, không đáp ứng với các phương pháp điều trị khác.

2. CHỈ ĐỊNH

- Giảm tiểu cầu miễn dịch vô căn không đáp ứng với Corticoid
- Người bệnh viêm cơ tự miễn có tổn thương phổi kẽ hoặc có viêm mạch nặng, hoặc đáp ứng kém với Corticoid phối hợp với Metrothexate.
- Lupus ban đỏ có các tổn thương nội tạng nặng không đáp ứng với Corticoid như viêm cầu thận tiến triển có hội chứng thận hư; giảm tiểu cầu nặng...
- Hội chứng Guillain-Barre
- Viêm đa rễ thần kinh mất Myelin
- Bệnh Kawasaki
- Hội chứng Stevens-Johnson và hội chứng Lyell do thuốc
- Suy giảm miễn dịch dịch thể

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Có tiền sử bị phản ứng nghiêm trọng, đe dọa tính mạng với globulin miễn dịch.
- Người bị thiếu hụt IgA có kháng thể kháng IgA và có tiền sử dị ứng.
- Người bệnh suy thận và đái tháo đường không dùng các chế phẩm IVIG có chứa đường.
- Người bệnh sau ghép tạng không dùng các chế phẩm IVIG độ thẩm thấu cao.

4. THẬN TRỌNG

- Phụ nữ có thai.
- Người bệnh suy thận.
- Người bệnh mới tiêm phòng một số loại vắc xin

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Điều dưỡng: 01 người

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolon
- Dopamin 200 mg
- Morphin hydrochloride 0,1% - 2ml
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10 mg
- Salbutamol 0,5 mg
- Glucose 5% 500ml
- Natriclorid 0,9% 100ml
- Natriclorid 0,9% 500ml
- Thuốc chống nôn, thuốc lợi tiểu

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Kéo, băng dính
- Huyết áp, ống nghe
- Gối kê tay, dây garo, cọc truyền
- Hộp vô khuẩn đựng: gạc tam giác, gạc phủ vùng truyền, bông cầu
- Găng tay vô khuẩn
- khay quả đậu hoặc túi đựng đồ bẩn, hộp đựng vật sắc nhọn
- Xe tiêm chuyên dụng
- Lồng kính pha thuốc chuyên dụng
- Quần áo, mũ, găng, kính bảo hộ để pha thuốc

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Dung dịch khử khuẩn tẩy rửa có chứa enzym
- Dung dịch khử khuẩn tay chứa cồn
- Dung dịch khử khuẩn 2%
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 20ml
- Bơm tiêm nhựa 50ml
- Dây truyền huyết thanh
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh

- Kim luồn Catheter
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Băng dính 5cm x 9,1m
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Găng khám
- Mũ giấy
- Khẩu trang giấy dây buộc
- Bông hút
- Oxy
- Dây oxy
- Dây nối bơm tiêm điện
- Mask khí dung

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh liệu pháp điều trị, sự cần thiết, hiệu quả và các tác dụng không mong muốn có thể có.
- Người bệnh đồng ý tham gia liệu pháp điều trị.
- Động viên và dặn người bệnh đi đại tiểu trước khi truyền.

Chuẩn bị bệnh nhân trước lần truyền đầu tiên

- + Định lượng nồng độ IgG (lặp lại trong 3 tháng).
- + Định lượng nồng độ IgA và IgM (lặp lại trong 3 tháng nếu yêu cầu).
- + Enzyme gan (lặp lại trong 6 tháng)
- + Công thức máu (lặp lại trong 6 tháng)

- + Cân nặng (lập lại trong 6 tháng)
- + Chiều cao - đối với trẻ em (lập lại trong 3 tháng)
- + Ký cam kết trước khi truyền.

Dự phòng

- + Paracetamol
- + Kháng Histamine (Loratadine hoặc Cetirizine hydrochloride)
- + Uống 1.5l nước trong 24h trước và sau truyền, khi cần cân nhắc bolus 500ml NaCl 0.9% trước truyền.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra y lệnh, thực hiện 5 đúng
- Kiểm tra lại xét nghiệm, đánh giá chức năng thận, tình trạng của người bệnh.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Buồng bệnh

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Điều dưỡng rửa tay độ mũ, đeo khẩu trang, mặc quần áo, đi găng tay bảo hộ
- Kiểm tra chai dịch, thuốc và bật nút chai, sát khuẩn tiến hành pha thuốc trong lồng kính chuyên dụng
- Xé túi đựng dây truyền, khóa dây truyền, cắm dây truyền vào chai dịch, treo chai dịch lên cọc truyền, đuổi hết khí trong dây truyền và khóa lại
- Điều dưỡng thay găng, đặt người bệnh nằm tư thế thuận lợi, bộc lộ vùng truyền, xác định vị trí truyền
- Đặt gối dưới vùng truyền, nẹp (nếu cần), đặt dây garo trên vị trí truyền
- Thắt dây garo, sát khuẩn vị trí truyền 2 lần cồn
- 1 tay cố định tĩnh mạch nơi truyền, 1 tay cầm Kim luồn Catheter đâm qua da một góc 15°C đến 30°C, hạ kim tiêm sát mặt da và luồn kim vào tĩnh mạch, khi thấy máu vào đốc kim tháo dây garo
- Lắp ba chạc, dây truyền
- Mở khóa cho dịch chảy, quan sát sắc mặt người bệnh
- Cố định đốc kim, đặt gạc phủ vùng truyền, cố định dây truyền, điều chỉnh tốc độ nhỏ giọt theo chỉ định. Bỏ nilon, gối kê tay và dây garo

- Tiêm thuốc chống nôn cho người bệnh
- Truyền cho người bệnh chai dịch có pha thuốc với tốc độ 60 giọt/ phút
- Tiêm thuốc lợi tiểu cho người bệnh
- Ghi phiếu tiêm truyền:
- + Giờ bắt đầu truyền
- + Số lượng dịch truyền
- + Giờ kết thúc
- Dặn người bệnh những điều cần thiết trước khi rời phòng
- Theo dõi sát tình trạng người bệnh.

Quy trình truyền IVIG

- Truyền theo y lệnh.
- Tốc độ truyền tham khảo:

Trẻ em

Cân nặng	Tốc độ truyền (ml/h)			
	15 phút đầu*	15 phút tiếp	15 phút tiếp	Cho đến khi kết thúc
5kg	3	6	12	25
10kg	6	12	25	50
15kg	10	20	40	75
20kg	12	25	50	100

* Bắt đầu truyền chậm trong lần truyền đầu tiên.

Người lớn

Lần đầu tiên	Lần tiếp theo
30 ml/h trong 30 phút. 60 ml/h trong 30 phút. 90 ml/h trong 30 phút. 120 ml/h trong 30 phút. 150 ml/h trong 30 phút* 180 ml/h trong 30 phút	Tốc độ truyền cho những BN hấp thu với lần truyền đầu tiên mà không có phản ứng phụ nào. 60 ml/h trong 15 phút 120 ml/h trong 15 phút 180 ml/h trong 15 phút 240 ml/h trong 15 phút Cân nhắc tốc độ tối đa trong khoảng 150 - 180ml/h ở những BN có phản ứng toàn thân từ nhẹ đến vừa ở lần truyền trước.
* Cân nhắc duy trì ở tốc độ 150ml/h nếu BN không khỏe hoặc trọng lượng cơ thể thấp hoặc truyền với lượng lớn.	

Theo dõi sau truyền

- Theo dõi BN ít nhất 10 - 20 phút sau truyền
- Yêu cầu BN báo lại các phản ứng hoặc triệu chứng bất thường trong 12h đầu sau truyền
- Nhắc BN uống 1.5 L nước trong 24h sau truyền và hẹn lịch lần tiếp theo.

6.2. Nhận định kết quả

- Trong 15 phút đầu theo dõi người bệnh về sắc mặt, mạch, huyết áp, nhịp thở, vùng truyền. Nếu thấy những biểu hiện bất thường phải báo ngay cho bác sĩ biết
- Quan sát sự lưu thông của dịch
- Thường xuyên kiểm tra:
 - + Xem nơi truyền có phồng không
 - + Dịch chảy có bị tắc không
 - + Không khí có trong dây truyền hay không
 - + Có bị tuột dây truyền ra khỏi đốc kim không
 - + Khi còn khoảng 10 -15ml dịch thì khóa lại, rút kim truyền hoặc thay chai khác nếu truyền tiếp.
- Đánh giá lại tình trạng người bệnh qua xét nghiệm: tế bào máu, điện giải đồ, sau truyền lần đầu 3-5 ngày và sau 2 tuần nếu điều trị lâu dài.
- Theo dõi tình trạng viêm, chảy máu của đường tiết niệu. Nếu có đái máu đại thể cần ngừng trị liệu.

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Dịch không chảy:
 - + Do mũi vát của thành kim áp sát vào thành mạch
 - + Do mạch xẹp
 - + Do tắc kim thường do cục máu đông trong lòng mạch

Giải pháp: Kiểm tra nguyên nhân và điều chỉnh kim truyền, dây truyền cho phù hợp.

- Phồng nơi tiêm: do kim truyền bị chệch khỏi lòng mạch, dịch thoát ra ngoài gây phồng nơi truyền làm cho người bệnh đau, gây hoại tử tổ chức nếu dịch truyền là ưu trương, hóa chất...
- Giải pháp: Kiểm tra nguyên nhân và cầm lại đường truyền cho phù hợp.
- Người bệnh bị sốc: trong quá trình truyền dung dịch tĩnh mạch, người bệnh có thể bị sốc do phản ứng với thuốc, hoặc dịch truyền không đảm bảo. Sốc cũng có thể xảy ra nếu lượng dịch đi vào cơ thể người bệnh quá nhanh với số lượng lớn.

Giải pháp: Ngừng truyền, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Phù phổi cấp: Trong trường hợp người bệnh bị bệnh tim, phổi, khi truyền dịch với số lượng lớn, tốc độ nhanh có thể dẫn đến phù phổi cấp nguy hiểm tính mạng người bệnh.

Giải pháp: Ngừng truyền, thăm khám điều trị.

- Tắc mạch phổi: Truyền dung dịch tĩnh mạch cho người bệnh nếu không đúng qui trình kỹ thuật, không khí lọt vào trong lòng mạch gây tắc ở những vùng mạch nhỏ, não, phổi...

Giải pháp: Ngừng truyền, thăm khám điều trị.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mày đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Crispin P, Burgess M, Beath A. Unified infusion rates for 10% intravenous immunoglobulin. *Transfus Apher Sci.* 2018 Apr;57(2):243-246.
2. Sriaroon P, Ballow M. Immunoglobulin Replacement Therapy for Primary Immunodeficiency. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2015 Nov;35(4):713-30.
3. Navarro-Triviño FJ, Pérez-López I, Ruíz-Villaverde R. Dermatology and Immunoglobulin Therapy: Who to Treat and How to Administer Immunoglobulins. *Actas Dermosifiliogr (Engl Ed).* 2018 May;109(4):323-330.
4. Stiehm ER. Adverse effects of human immunoglobulin therapy. *Transfus Med Rev.* 2013 Jul;27(3):171-8.
5. Younger ME, Aro L, Blouin W, Duff C, Epland KB, Murphy E, Sedlak D; Nurse Advisory Committee Immune Deficiency Foundation. Nursing guidelines for administration of immunoglobulin replacement therapy. *J Infus Nurs.* 2013 Jan-Feb;36(1):58-68.

95. TRUYỀN PULSE THERAPY CORTICOID

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

Tiêm truyền dung dịch Corticoid liều cao đường tĩnh mạch ngắn ngày (Pulse therapy corticoid) là đưa vào cơ thể người bệnh một khối lượng dung dịch và thuốc corticoid bằng đường tĩnh mạch.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Các bệnh tự miễn dịch là nhóm bệnh chưa rõ nguyên nhân vì vậy chưa có thuốc điều trị đặc hiệu. Một phương pháp điều trị để cứu sống và kéo dài đời sống cho các bệnh nhân mắc bệnh tự miễn có biểu hiện tổn thương cơ quan nặng đó là truyền Corticoid liều cao đường tĩnh mạch ngắn ngày (Pulse therapy).

2. CHỈ ĐỊNH

- Lupus ban đỏ hệ thống có các biểu hiện tổn thương cơ quan nặng với một trong các biểu hiện sau: viêm thận lupus nặng, xuất huyết phế nang, thiếu máu huyết tán, xuất huyết giảm tiểu cầu, viêm mạch cấp tính, viêm cơ tim cấp tính, tràn dịch màng tim, tổn thương hệ thần kinh trung ương: viêm não Lupus, viêm màng não vô khuẩn Lupus, viêm tủy cắt ngang.
- Viêm cơ tự miễn không đáp ứng với Corticoid liều thông thường
- Viêm mạch hệ thống có tổn thương thận nặng
- Viêm thần kinh thị giác
- Đợt cấp bệnh xơ cứng rải rác
- Điều trị chống thải ghép tạng
- Bệnh da tự miễn có bọt nước: Pemphigus Vulgaris, bệnh da dạng Herpes có bọt nước.

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Quá mẫn với các thành phần của thuốc.
- Tăng huyết áp nặng chưa được kiểm soát.
- Nhiễm trùng cấp tiến triển (nhiễm nấm, virus, vi khuẩn).
- Rối loạn tâm thần, động kinh (loại trừ do lupus)
- Đái tháo đường chưa kiểm soát được đường máu
- Viêm tụy cấp
- Tăng nhãn áp
- Tổn thương gan nặng
- Xuất huyết tiêu hóa cao
- Mới tiêm vaccin sống giảm độc lực

4. THẬN TRỌNG

- Rối loạn nước và điện giải
- Suy tim
- Loãng xương
- Viêm loét dạ dày tá tràng
- Suy thận nặng

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Điều dưỡng: 01 người

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolon 40 mg
- Dopamin 200 mg
- Morphin hydrochloride 0,1% - 2ml
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10 mg
- Salbutamol 0,5 mg
- Glucose 5% 500ml
- Natriclorid 0,9% 100ml
- Natriclorid 0,9% 500ml
- Thuốc chống nôn, thuốc lợi tiểu

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Kéo, băng dính
- Huyết áp, ống nghe
- Gối kê tay, dây garo, cọc truyền
- Hộp vô khuẩn đựng: gạc tam giác, gạc phủ vùng truyền, bông cầu
- Găng tay vô khuẩn
- khay quả đậu hoặc túi đựng đồ bẩn, hộp đựng vật sắc nhọn
- Xe tiêm chuyên dụng
- Lồng kính pha thuốc chuyên dụng
- Quần áo, mũ, găng, kính bảo hộ để pha thuốc

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Dung dịch khử khuẩn tẩy rửa có chứa enzym

- Dung dịch khử khuẩn tay chứa cồn
- Dung dịch khử khuẩn 2%
- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 20ml
- Bơm tiêm nhựa 50ml
- Dây truyền huyết thanh
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Kim luồn Catheter
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Băng dính 5cm x 9,1m
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Găng khám
- Mũ giấy
- Khẩu trang giấy dây buộc
- Bông hút
- Oxy
- Dây oxy
- Dây nối bơm tiêm điện
- Mask khí dung

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh liệu pháp điều trị, sự cần thiết, hiệu quả và các tác dụng không mong muốn có thể có.
- Người bệnh đồng ý tham gia liệu pháp điều trị.
- Động viên và dặn người bệnh đi đại tiểu trước khi truyền.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra y lệnh, thực hiện 5 đúng
- Kiểm tra lại xét nghiệm, đánh giá chức năng thận, tình trạng của người bệnh.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Buồng bệnh

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Điều dưỡng rửa tay độ mũ, đeo khẩu trang, mặc quần áo, đi găng tay bảo hộ
- Kiểm tra chai dịch, thuốc và bột nút chai, sát khuẩn tiến hành pha thuốc trong lồng kính chuyên dụng
- Xé túi đựng dây truyền, khóa dây truyền, cắm dây truyền vào chai dịch, treo chai dịch lên cọc truyền, đuổi hết khí trong dây truyền và khóa lại
- Điều dưỡng thay găng, đặt người bệnh nằm tư thế thuận lợi, bộc lộ vùng truyền, xác định vị trí truyền
- Đặt gối dưới vùng truyền, nẹp (nếu cần), đặt dây garo trên vị trí truyền
- Thắt dây garo, sát khuẩn vị trí truyền 2 lần cồn
- 1 tay cố định tĩnh mạch nơi truyền, 1 tay cầm Kim luồn Catheter đâm qua da một góc 15°C đến 30°C, hạ kim tiêm sát mặt da và luồn kim vào tĩnh mạch, khi thấy máu vào đốc kim tháo dây garo
- Lắp ba chạc, dây truyền
- Mở khóa cho dịch chảy, quan sát sắc mặt người bệnh
- Cố định đốc kim, đặt gạc phủ vùng truyền, cố định dây truyền, điều chỉnh tốc độ nhỏ giọt theo chỉ định. Bỏ nilon, gối kê tay và dây garo
- Tiêm thuốc chống nôn cho người bệnh
- Truyền cho người bệnh chai dịch có pha thuốc với tốc độ 60 giọt/ phút

- Tiêm thuốc lợi tiểu cho người bệnh
- Ghi phiếu tiêm truyền:
 - + Giờ bắt đầu truyền
 - + Số lượng dịch truyền
 - + Giờ kết thúc
- Dẫn người bệnh những điều cần thiết trước khi rời phòng
- Theo dõi sát tình trạng người bệnh.

6.2. Nhận định kết quả

- Trong 15 phút đầu theo dõi người bệnh về sắc mặt, mạch, huyết áp, nhịp thở, vùng truyền. Nếu thấy những biểu hiện bất thường phải báo ngay cho bác sĩ biết
- Quan sát sự lưu thông của dịch
- Thường xuyên kiểm tra:
 - + Xem nơi truyền có phồng không
 - + Dịch chảy có bị tắc không
 - + Không khí có trong dây truyền hay không
 - + Có bị tuột dây truyền ra khỏi đốc kim không
 - + Khi còn khoảng 10 -15ml dịch thì khóa lại, rút kim truyền hoặc thay chai khác nếu truyền tiếp.
- Đánh giá lại tình trạng người bệnh qua xét nghiệm: tế bào máu, điện giải đồ, sau truyền lần đầu 3-5 ngày và sau 2 tuần nếu điều trị lâu dài.
- Theo dõi tình trạng viêm, chảy máu của đường tiết niệu. Nếu có đái máu đại thể cần ngừng trị liệu.

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Dịch không chảy:
 - + Do mũi vát của thành kim áp sát vào thành mạch
 - + Do mạch xẹp
 - + Do tắc kim thường do cục máu đông trong lòng mạch

Giải pháp: Kiểm tra nguyên nhân và điều chỉnh kim truyền, dây truyền cho phù hợp.

- Phồng nơi tiêm: do kim truyền bị chệch khỏi lòng mạch, dịch thoát ra ngoài gây phồng nơi truyền làm cho người bệnh đau, gây hoại tử tổ chức nếu dịch truyền là ưu trương, hóa chất...

Giải pháp: Kiểm tra nguyên nhân và cầm lại đường truyền cho phù hợp.

- Người bệnh bị sốc: trong quá trình truyền dung dịch tĩnh mạch, người bệnh có thể bị sốc do phản ứng với thuốc, hoặc dịch truyền không đảm bảo. Sốc cũng có thể xảy ra nếu lượng dịch đi vào cơ thể người bệnh quá nhanh với số lượng lớn.

Giải pháp: Ngừng truyền, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Phù phổi cấp: Trong trường hợp người bệnh bị bệnh tim, phổi, khi truyền dịch với số lượng lớn, tốc độ nhanh có thể dẫn đến phù phổi cấp nguy hiểm tính mạng người bệnh.

Giải pháp: Ngừng truyền, thăm khám điều trị.

- Tắc mạch phổi: Truyền dung dịch tĩnh mạch cho người bệnh nếu không đúng qui trình kỹ thuật, không khí lọt vào trong lòng mạch gây tắc ở những vùng mạch nhỏ, não, phổi...

Giải pháp: Ngừng truyền, thăm khám điều trị.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mày đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Feldman-Billard S, Lissak B, Benrabah R, Kassaei R, Héron E. Intravenous pulse methylprednisolone therapy in eye disease: effect on glucose tolerance. *Ophthalmology*. 2003 Dec;110(12):2369-71.
2. Gheisari M, Faraji Z, Dadras MS, Nasiri S, Robati RM, Moravvej H, Tehranchinia Z, Ghalamkarpour F, Namazi N, Nobari NN. Methylprednisolone pulse therapy plus adjuvant therapy for pemphigus vulgaris: an analysis of 10 years' experience on 312 patients. *Dermatol Ther*. 2019 Sep;32(5):e13057.
3. Raghu P, Manadan AM, Schmukler J, Mathur T, Block JA. Pulse Dose Methylprednisolone Therapy for Adult Idiopathic Inflammatory Myopathy. *Am J Ther*. 2015 Jul-Aug;22(4):244-7.
4. Senila SC, Danescu SA, Ungureanu L, Candrea E, Cosgarea RM. Intravenous methylprednisolone pulse therapy in severe alopecia areata. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2015 Jan-Feb;81(1):95.

96. TRUYỀN KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Định nghĩa, nguyên lý

Các bệnh dị ứng và bệnh tự miễn dịch đều chưa có thuốc điều trị đặc hiệu. Nhiều trường hợp bệnh nặng tổn thương đa cơ quan, đáp ứng rất kém với các phương pháp điều trị thông thường bằng corticoid, thuốc chống dị ứng và thuốc ức chế miễn dịch. Một phương pháp điều trị để cứu sống và kéo dài đời sống bệnh nhân này là truyền các chế phẩm kháng thể đơn dòng.

1.2. Mục đích của kỹ thuật

Truyền kháng thể đơn dòng là một phương pháp điều trị để cứu sống và kéo dài đời sống của bệnh nhân mắc các bệnh dị ứng và bệnh tự miễn đáp ứng kém với các phương pháp điều trị thông thường bằng Corticoid, thuốc chống sốt rét và thuốc ức chế miễn dịch.

2. CHỈ ĐỊNH

Được chỉ định để điều trị nhiều loại bệnh dị ứng và bệnh tự miễn dịch trong các trường hợp nặng không đáp ứng với các thuốc điều trị thông thường. Mỗi loại kháng thể đơn dòng sẽ có các chỉ định riêng. Một số bệnh lý dị ứng và tự miễn được chỉ định điều trị kháng thể đơn dòng bao gồm:

- + Viêm khớp dạng thấp
- + Viêm cột sống dính khớp
- + Bệnh Crohn
- + Viêm loét đại trực tràng
- + Vảy nến
- + Xơ cứng rải rác
- + Lupus ban đỏ hệ thống
- + Hen phế quản dị ứng
- + Mày đay mạn tính
- + Viêm mũi dị ứng

3. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Các loại chế phẩm kháng thể đơn dòng sẽ có các chống chỉ định riêng biệt, dưới đây là một số chống chỉ định thường gặp:

- Đang có nhiễm trùng tiến triển.
- Phụ nữ có thai
- Suy tim nặng
- Bệnh tim mạch không được kiểm soát
- Mẫn cảm với các thành phần của thuốc.

- Bệnh nhân mới sử dụng vắc xin sống giảm độc lực trong vòng 4 tuần trước đó

4. THẬN TRỌNG

- Tiền sử mắc lao
- Phụ nữ đang cho con bú

5. CHUẨN BỊ

5.1. Người thực hiện

- Bác sỹ: 01 người
- Điều dưỡng: 01 người

5.2. Thuốc, hóa chất

- Methylprednisolon 40mg
- Dopamin 200 mg
- Morphin hydrochloride 0,1% - 2ml
- Epinephrine 1mg
- Diphenhydramine 10 mg
- Salbutamol 0,5 mg
- Glucose 5% 500ml
- Natriclorid 0,9% 100ml
- Natriclorid 0,9% 500ml
- Thuốc chống nôn, thuốc lợi tiểu

5.3. Vật tư

5.3.1 Dụng cụ

- Kéo, băng dính
- Huyết áp, ống nghe
- Gối kê tay, dây garo, cọc truyền
- Hộp vô khuẩn đựng: gạc tam giác, gạc phủ vùng truyền, bông cầu
- Găng tay vô khuẩn
- khay quả đậu hoặc túi đựng đồ bẩn, hộp đựng vật sắc nhọn
- Xe tiêm chuyên dụng
- Lồng kính pha thuốc chuyên dụng
- Quần áo, mũ, găng, kính bảo hộ để pha thuốc

5.3.2 Vật tư tiêu hao

- Dung dịch khử khuẩn tẩy rửa có chứa enzym (Anysime DD1)
- Dung dịch khử khuẩn tay chứa cồn (SDS handrub)
- Dung dịch khử khuẩn (Steranios 2%)

- Cồn sát khuẩn 70 độ
- Bơm tiêm nhựa 1ml
- Bơm tiêm nhựa 5ml
- Bơm tiêm nhựa 10ml
- Bơm tiêm nhựa 20ml
- Bơm tiêm nhựa 50ml
- Dây truyền huyết thanh
- Điện cực dán cho máy theo dõi người bệnh
- Kim lườn Catheter
- Chạc ba dịch truyền có dây nối
- Gạc lót đốc kim 4cmx5cmx4L
- Băng dính 5cm x 9,1m
- Băng keo cá nhân 2cm x 6cm
- Canuyn mayo
- Găng khám
- Mũ giấy
- Khẩu trang giấy dây buộc
- Bông hút
- Oxy
- Dây oxy
- Dây nối bơm tiêm điện
- Mask khí dung

5.4. Trang thiết bị

- Máy theo dõi dấu hiệu sinh tồn
- Máy tính
- Máy in
- Đầu đọc barcode
- Máy in barcode
- Thùng đựng rác tái chế
- Thùng đựng rác lây nhiễm
- Thùng đựng rác sinh hoạt
- Thùng nhựa ngâm dụng cụ bẩn....

5.5. Chuẩn bị bệnh nhân

- Bác sỹ giải thích cho người bệnh liệu pháp điều trị, sự cần thiết, hiệu quả và các tác dụng không mong muốn có thể có.
- Người bệnh đồng ý tham gia liệu pháp điều trị.
- Động viên và dặn người bệnh đi đại tiểu trước khi truyền.

5.6. Hồ sơ bệnh án: Phiếu chỉ định thực hiện kỹ thuật

- Kiểm tra y lệnh, thực hiện 5 đúng
- Kiểm tra lại xét nghiệm, đánh giá chức năng thận, tình trạng của người bệnh.

5.7. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 - 2 giờ

5.8. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Buồng bệnh

5.9. Kiểm tra hồ sơ

a. *Kiểm tra người bệnh:* Đánh giá tính chính xác của người bệnh: đúng người bệnh, đúng chẩn đoán, đúng vị trí cần thực hiện thủ thuật.

b. *Thực hiện bảng kiểm an toàn thủ thuật*

c. *Tư thế bệnh nhân:* Nằm

6. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

6.1. Các bước thực hiện

- Điều dưỡng rửa tay độ mũ, đeo khẩu trang, mặc quần áo, đi găng tay bảo hộ
- Kiểm tra chai dịch, thuốc và bịt nút chai, sát khuẩn tiến hành pha thuốc trong lồng kính chuyên dụng
- Xé túi đựng dây truyền, khóa dây truyền, cắm dây truyền vào chai dịch, treo chai dịch lên cọc truyền, đuổi hết khí trong dây truyền và khóa lại
- Điều dưỡng thay găng, đặt người bệnh nằm tư thế thuận lợi, bộc lộ vùng truyền, xác định vị trí truyền
- Đặt gối dưới vùng truyền, nẹp (nếu cần), đặt dây garo trên vị trí truyền
- Thắt dây garo, sát khuẩn vị trí truyền 2 lần cồn
- 1 tay cố định tĩnh mạch nơi truyền, 1 tay cầm Kim luân Catheter đâm qua da một góc 15° đến 30°, hạ kim tiêm sát mặt da và luân kim vào tĩnh mạch, khi thấy máu vào đốc kim tháo dây garo
- Lắp ba chạc, dây truyền
- Mở khóa cho dịch chảy, quan sát sắc mặt người bệnh
- Cố định đốc kim, đặt gạc phủ vùng truyền, cố định dây truyền, điều chỉnh tốc độ nhỏ giọt theo chỉ định. Bỏ nilon, gối kê tay và dây garo
- Tiêm thuốc chống nôn cho người bệnh
- Truyền cho người bệnh chai dịch có pha thuốc với tốc độ 60 giọt/ phút
- Tiêm thuốc lợi tiểu cho người bệnh

- Ghi phiếu tiêm truyền:
- + Giờ bắt đầu truyền
- + Số lượng dịch truyền
- + Giờ kết thúc
- Dẫn người bệnh những điều cần thiết trước khi rời phòng
- Theo dõi sát tình trạng người bệnh.

6.2. Nhận định kết quả

- Trong 15 phút đầu theo dõi người bệnh về sắc mặt, mạch, huyết áp, nhịp thở, vùng truyền. Nếu thấy những biểu hiện bất thường phải báo ngay cho bác sĩ biết
- Quan sát sự lưu thông của dịch
- Thường xuyên kiểm tra:
 - + Xem nơi truyền có phồng không
 - + Dịch chảy có bị tắc không
 - + Không khí có trong dây truyền hay không
 - + Có bị tuột dây truyền ra khỏi đốc kim không
 - + Khi còn khoảng 10 -15ml dịch thì khóa lại, rút kim truyền hoặc thay chai khác nếu truyền tiếp.
- Đánh giá lại tình trạng người bệnh qua xét nghiệm: tế bào máu, điện giải đồ, sau truyền lần đầu 3-5 ngày và sau 2 tuần nếu điều trị lâu dài.
- Theo dõi tình trạng viêm, chảy máu của đường tiết niệu. Nếu có đái máu đại thể cần ngừng trị liệu.

6.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

Trả kết quả theo quy trình liên quan, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm.

7. THEO DÕI VÀ XỬ TRÍ TAI BIẾN

7.1. Tai biến trong khi thực hiện kỹ thuật

- Dịch không chảy:
 - + Do mũi vát của thành kim áp sát vào thành mạch
 - + Do mạch xẹp
 - + Do tắc kim thường do cục máu đông trong lòng mạch

Giải pháp: Kiểm tra nguyên nhân và điều chỉnh kim truyền, dây truyền cho phù hợp.

- Phồng nơi tiêm: do kim truyền bị chệch khỏi lòng mạch, dịch thoát ra ngoài gây phồng nơi truyền làm cho người bệnh đau, gây hoại tử tổ chức nếu dịch truyền là ưu trương, hóa chất...

Giải pháp: Kiểm tra nguyên nhân và cầm lại đường truyền cho phù hợp.

- Người bệnh bị sốc: trong quá trình truyền dung dịch tĩnh mạch, người bệnh có thể bị sốc do phản ứng với thuốc, hoặc dịch truyền không đảm bảo. Sốc cũng có thể xảy ra nếu lượng dịch đi vào cơ thể người bệnh quá nhanh với số lượng lớn.

Giải pháp: Ngừng truyền, cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Phù phổi cấp: Trong trường hợp người bệnh bị bệnh tim, phổi, khi truyền dịch với số lượng lớn, tốc độ nhanh có thể dẫn đến phù phổi cấp nguy hiểm tính mạng người bệnh.

Giải pháp: Ngừng truyền, thăm khám điều trị.

- Tắc mạch phổi: Truyền dung dịch tĩnh mạch cho người bệnh nếu không đúng qui trình kỹ thuật, không khí lọt vào trong lòng mạch gây tắc ở những vùng mạch nhỏ, não, phổi...

Giải pháp: Ngừng truyền, thăm khám điều trị.

7.2. Tai biến sau khi thực hiện kỹ thuật

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng cấp tính - sốc phản vệ

Giải pháp: Cấp cứu bệnh nhân theo phác đồ cấp cứu sốc phản vệ của Bộ Y tế.

- Bệnh nhân có biểu hiện: ban đỏ trên da, mào đay, phù, ngứa.....

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

7.3. Biến chứng muộn

- Bệnh nhân có biểu hiện dị ứng muộn

Giải pháp: Thăm khám, đánh giá mức độ dị ứng của bệnh nhân và chỉ định thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Paul F, Cartron G. Infusion-related reactions to rituximab: frequency, mechanisms and predictors. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019 Apr;15(4):383-389.
2. Paul F, Cartron G. Infusion-related reactions to rituximab: frequency, mechanisms and predictors. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019 Apr;15(4):383-389.
3. Gaffney KJ, Dahl EM, Stanton MP Jr, Starek E, Zembillas AS. Rapid-Infusion Rituximab in a Pediatric Population. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2020;25(3):215-219.
4. Fenton TT, Crawford BS, Bullington SM. Implementation and Evaluation of a 90-Minute Rituximab Infusion Protocol at the Richard L. Roudebush VA Medical Center. *Fed Pract*. 2020 Jul;37(7):331-335.
5. Swan JT, Zaghloul HA, Cox JE, Murillo JR Jr. Use of a pharmacy protocol to convert standard rituximab infusions to rapid infusion shortens outpatient infusion clinic visits. *Pharmacotherapy*. 2014 Jul;34(7):686-94.