BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH LÀO CAI

KHOA HÓA SINH – VI SINH

****

**QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM ĐỊNH LƯỢNG NSE**

**TRÊN HỆ THỐNG MÁY COBAS E411, E601, E602**

**QTKT.MD.35**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **Người biên soạn** | **Người xem xét** | **Lãnh đạo bệnh viện phê duyệt** |
| Họ và tên | **CNXN. Nguyễn Hồng Minh** | **BSCKI. Hồ Thị Phi Nga** |  |
| Chữ ký |  |  |  |
|  | **BSCKI. Nguyễn Huy Hà** |
| Chữ ký |  |
| Ngày ký | 25/06/2023 | 26/06/2023 | 27/06/2023 |
| Ngày có hiệu lực: 27/06/2023 Lần sửa đổi: | | | |
| *Tài liệu nội bộ* | | | |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Logo-Bvlc-BW135** | **QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM ĐỊNH LƯỢNG NSE TRÊN HỆ THỐNG MÁY COBAS E411, E601, E602** | Mã số: QTKT.MD.35  Phiên bản số: 1.0 |

**NƠI NHẬN** *(ghi rõ nơi nhận rồi đánh dấu✓vào ô bên cạnh)*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **☑** | Hội đồng khoa học bệnh viện | **☑** | Ban Giám Đốc | **☑** | Phòng KHTH |
| **☑** | Tổ QLCL | **☑** | Khoa Hóa sinh – Vi sinh |  |  |

**THEO DÕI TÌNH TRẠNG SỬA ĐỔI** (*tình trạng sửa đổi so với bản trước đó)*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Mã tài liệu** | **Nội dung xem xét/ sửa đổi** | **Ngày xem xét/ sửa đổi** | **Người xem xét/ sửa đổi** |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

*Tài liệu nội bộ*

**QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM ĐỊNH LƯỢNG NSE**

**TRÊN HỆ THỐNG MÁY COBAS E411, E601, E602**

**1. Mục đích**

Hướng dẫn cho toàn bộ nhân viên trong khoa Hóa sinh -Vi sinh hiểu và tuân thủ theo quy trình định lượng NSE trên hệ thống máy miễn dịch tự động cobas E411, E601, E602 từ đó tránh được tối đa sai số có thể gặp trong giai đoạn trước xét nghiệm, trong xét nghiệm và sau xét nghiệm.

**2. Phạm vi áp dụng**

- Tại phòng xét nghiệm Miễn dịch, Labo Vi sinh, khoa Hóa sinh - Vi sinh.

- Thời gian áp dụng: 24h/24h tất cả các ngày trong tuần.

**3. Trách nhiệm**

- Hội đồng khoa học kỹ thuật của Bệnh viện có trách nhiệm thẩm định quy trình.

- Lãnh đạo bệnh viện có trách nhiệm phê duyệt quy trình.

- Lãnh đạo khoa Hóa sinh -Vi sinh, tổ quản lý chất lượng của khoa có trách nhiệm triển khai, duy trì tính hiệu lực của quy trình.

- Tất cả nhân viên khoa Hóa sinh - Vi sinh đã được đào tạo có trách nhiệm áp dụng, tuân thủ việc thực hiện và đề xuất cải tiến quy trình.

- Người đủ thẩm quyền, được giao nhiệm vụ nhận định và ký duyệt kết quả.

**4. Định nghĩa, thuật ngữ và chữ viết tắt**

- ATSH: An toàn sinh học.

- BN: Bệnh nhân.

- NSE: Là tên viết tắt của enzyme enolase đặc hiệu thần kinh (neuron specific enolase), là một dấu ấn ung thư có bản chất enzyme, đặc hiệu cho ung thư phổi tế bào nhỏ (small cell lung cancer: SCLC) và u nguyên bào thần kinh (neuroblastoma).

- HT: Huyết thanh.

- KN: Kháng nguyên.

- KT: Kháng thể.

- QTKT: Quy trình kỹ thuật.

- TM1: PreciControl Tumor Marker (Huyết thanh kiểm tra mức nồng độ 1).

- TM2: PreciControlTumor Marker (Huyết thanh kiểm tra mức nồng độ 2).

- QC: Quality Control.

**5. Nguyên lý**

- NSE được định lượng theo nguyên lý bắt cặp bằng phương pháp điện hóa phát quang miễn dịch.

- Tổng thời gian phân tích xét nghiệm trên máy: 18 phút.

- Thời kỳ ủ đầu tiên: 20μL mẫu thử, KT đơn dòng đặc hiệu kháng NSE đánh dấu biotin và KT đơn dòng đặc hiệu kháng NSE đánh dấu phức hợp ruthenium phản ứng với nhau tạo thành phức hợp bắt cặp.

- Thời kỳ ủ thứ 2: Sau khi thêm các vi hạt phủ sóng streptavidin, phức hợp miễn dịch trên trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin.

- Hỗn hợp phản ứng được chuyển tới buồng đo, ở đó các vi hạt đối từ được bắt giữ trên bề mặt của điện cực. Những thành phần không gắn kết sẽ bị thải ra ngoài buồng đo bởi dung dịch Procell/Procell M. Cho điện áp vào điện cực sẽ tạo nên sự phát quang hóa học được đo bằng bộ khuếch đại quang từ.

- Các kết quả được xác định thông qua một đường chuẩn xét nghiệm trên máy được tạo nên bởi xét nghiệm 2 điểm chuẩn và thông tin đường chuẩn chính qua mã vạch trên hộp thuốc thử.

**6. Trang thiết bị và vật tư**

***6.1. Thiết bị, hóa chất***

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Cobas E 411 | Cobas E 601 | Cobas E 602 |
| Máy ly tâm | x | x | x |
| Hóa chất Elecsys NSE | x | x | x |
| Chất chuẩn NSE | x | x | x |
| PreciColtrol Tumor Marker | x | x | x |
| Solution hóa chất rửa điện cực | x | x | x |
| Syswash | x |  |  |
| Procell | x |  |  |
| Cleancell | x |  |  |
| Procell M |  | x | x |
| Clean Cell M |  | x | x |
| Probe |  | x | x |
| Preclean M |  | x | x |

***6.2. Vật tư/ vật liệu***

6.2.1. Dụng cụ

- Pipet 100 µL, Pipet 1000 µL.

- Đầu côn 100 µL, đầu côn 1000 µL.

- Găng tay, khẩu trang.

- Cồn sát trùng, bút ghi kính,giấy in, panh, kéo, mã code, hộp an toàn.

- Cóng đựng mẫu nhựa 2ml.

- Giá đựng mẫu, rack chạy mẫu.

- Assay cup: Cobas E411.

- Assay tip: Cobas E411.

- Assay tip/Assay cup: Cobas E601, E602.

6.2.2. Mẫu bệnh phẩm

***-*** Lấy bệnh phẩm theo đúng quy định của "Sổ tay dịch vụ khách hàng" mã số XN-STDVKH.01.

- Từ chối với những mẫu bệnh phẩm không đạt yêu cầu ghi vào"Sổ từ chối mẫu" mã số XN-BM 5.8.1/03.

**7. Kiểm tra chất lượng**

-Thực hiện chuẩn ngay trong vòng 24 giờ khi thay lot hóa chất mới hoặc khi nội kiểm không đạt. Tiêu chuẩn chấp nhận chuẩn đạt khi kết quả chuẩn in ra có dòng chữ: Data latest succsessful calibration và kết quả QC đạt.

- Chạy mẫu huyết thanh kiểm tra theo"Quy định số 139/BVT-KHTH quy định tần suất chạy nội kiểm, ngoại kiểm".

- Thực hiện nội kiểm tra theo "Quy trình nội kiểm tra chất lượng xét nghiệm" mã số XN-QTQL 5.8.5.

- Thực hiện ngoại kiểm tra theo "Quy trình ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm" mã số XN-QTQL 5.8.6.

**8. An toàn**

- Nhiệt độ phòng quy định từ 21°C → 26°C theo QĐ 35/2005/QĐ BYT.

- Độ ẩm ≤ 70%.

- Đeo găng tay, khẩu trang khi làm việc.

- Làm sạch khu vực làm việc với dung dịch cồn 70° trước và sau mỗi lần làm việc.

- Khi có sự cố tràn đổ bệnh phẩm phải khắc phục theo hướng dẫn trong "Sổ tay an toàn sinh học" mã số XN-STATSH.

- Thực hiện đúng các quy trình xử lý rác thải, mẫu bệnh phẩm, mẫu nội kiểm đã chạy, vỏ lọ hóa chất đã sử dụng theo "Quy trình hướng dẫn an toàn " mã số XN-QTQL 5.12.2.

- Luôn luôn coi mẫu bệnh phẩm đều có nguy cơ lây truyền các bệnh truyền nhiễm.

- Thực hiện an toàn điện, phòng chống cháy nổ, xử lý khi có sự cố xảy ra trong phòng xét nghiệm theo "Sổ tay an toàn sinh học" mã số XN-STATSH.

**9. Nội dung thực hiện**

***9.1. Chuẩn bị***

- Khởi động máy, kiểm tra hóa chất, thuốc thử, vật tư (theo quy trình sử dụng máy).

- Huyết thanh được lấy bằng cách sử dụng ống không có chất chống đông (nắp đỏ) hoặc các ống chứa gel tách, ly tâm máu tốc độ 3500 vòng/ 15 phút. Máu phải được ly tâm ngay trong vòng 1 giờ sau khi lấy .

- Cắm ống bệnh phẩm vào rack chạy mẫu hoặc hút bệnh phẩm ra cóng.

***9.2. Các bước tiến hành***

- Theo "Quy trình vận hành máy xét nghiệm Cobas E411" mã số QTKT.M.19.

- Theo "Quy trình vận hành máy xét nghiệm Cobas E601" mã số QTKT.M.20.

- Theo "Quy trình vận hành máy xét nghiệm Cobas E602" mã số QTKT.M.24.

**10. Diễn giải kết quả và báo cáo**

- Đơn vị đo: ng/mL.

- Khoảng tham chiếu: 0.0 → 17ng/mL (Theo QĐ 320- BYT).

- Sau khi máy chạy xong tự động đổ kết quả vào phần mềm máy tính. Đối chiếu kiểm tra kết quả → duyệt kết quả → in kết quả → trả kết quả cho bệnh nhân hoặc khoa phòng để lưu bệnh án.

-Khoảng đo của máy ≤ 370ng/mL. Nếu kết quả đo được >370 ng/mL thì tiến hành chạy pha loãng. Tiến hành chạy lại mẫu: Từ màn hình chính chọn Work place → Test selection → Sample ID (đánh mã BN theo mã của khoa HSVS nhập mẫu) → Normal, chọn tỷ lệ pha loãng 1: 2 → tích xét nghiệm NSE → Barcode Read Error → Rack No.-pos (đánh số rách) → Enter (đánh vị trí trên rack) → Add → OK → Save → Start nhỏ → Start to. (Sau khi chọn chế độ pha loãng mẫu phải bắt buộc chọn lại chế độ NORMAL cho các mẫu tiếp theo).

- Tăng cao và có giá trị nhất trong ung thư phổi tế bào nhỏ. Ngoài ra còn tăng cao trong một số trường hợp u nguyên bào thần kinh, khối u ác tính ở tinh hoàn, u thần kinh đệm, u màng não, u xơ thần kinh ...

**11. Lưu ý**

-Yếu tố hạn chế ảnh hưởng kết quả xét nghiệm: Khoảng đo của máy 0.05- 370 ng/mL. Khi kết quả > 370 ng/mL phải pha loãng tỉ lệ 1:2, kết quả sau pha loãng phải > 50 ng/mL.

- Mẫu bệnh phẩm phải được vận chuyển ngay đến phòng xét nghiệm trong vòng 1 giờ, phải ly tâm ngay để tránh NSE giải phóng ra từ hồng cầu, tiểu cầu gây tăng nồng độ NSE giả.

- Không sử dụng các mẫu bị bất hoạt bởi nhiệt độ.

- Tránh gây vỡ hồng cầu trong khi lấy mẫu hoặc xử lý mẫu.

- Không sử dụng huyết tương.

- Các mẫu khi đặt trên máy phân tích không quá 2 giờ để tránh hiệu ứng bay hơi.

- Xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Bilirubin < 1231μmol/L hoặc < 72mg/dL.

+ Lipit huyết < 2000 mg/dL.

+ Biotin < 409 nmol/L hoặc < 100 ng/mL.

- Trong một số hiếm trường hợp, nhiễu có thể xảy ra do nồng độ KT, kháng KT đặc hiệu kháng chất phân tích, kháng streptavidin hay ruthenium quá cao của mẫu bệnh phẩm phân tích.

**12. Lưu hồ sơ**

- Kết quả vào phần mềm máy tính và in ra giấy trả cho người bệnh, khoa phòng lưu bệnh án.

- Cuối tháng in sổ từ phần mềm máy tính → lưu mỗi tháng một lần.

**13. Tài liệu liên quan**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **TT** | **Mã quy trình/biểu mẫu** | **Tên quy trình/ biểu mẫu** |
| 1 | QTKT.M.19 | Quy trình vận hành máy xét nghiệm Cobas E411 |
| 2 | QTKT.M.20 | Quy trình vận hành máy xét nghiệm Cobas E601 |
| 3 | QTKT.M.24 | Quy trình vận hành máy xét nghiệm Cobas E602 |
| 4 | XN-STATSH | Sổ tay an toàn sinh học |
| 5 | XN-BM 5.8.1/03 | Biểu mẫu từ chối mẫu |
| 6 | XN-STDVKH.01 | Sổ tay dịch vụ khách hàng |
| 7 | XN-QTQL 5.8.5 | Quy trình nội kiểm tra chất lượng xét nghiệm |
| 8 | XN-QTQL 5.8.6 | Quy trình ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm |
| 9 | XN-QTQL 5.12.2 | Quy trình hướng dẫn an toàn |

**14. Tài liệu tham khảo**

- Quyết định 320/ QĐ – BYT ngày 23/01/2014.

- Hướng dẫn sử dụng sinh phẩm của nhà sản xuất.

- Quyết định 139/BVT-KHTH về quy định tần suất chạy nội kiểm, ngoại kiểm.