BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH LÀO CAI

KHOA HÓA SINH – VI SINH

****

**QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HIV MIỄN DỊCH TỰ ĐỘNG**

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

**QTKT.MD.37**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **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 | 20/6/2023 | 21/06/2023 | 22/06/2023 |
| Ngày có hiệu lực: 27/06/2023 Lần sửa đổi: | | | |
| *Tài liệu nội bộ* | | | |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Logo-Bvlc-BW135** | **QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM SÀNG LỌC HIV MIỄN DỊCH TỰ ĐỘNGTRÊN HỆ THỐNG MÁY COBAS E411, E601, E 602** | Mã số: QTKT.MD.37  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 | **☑** | Các khoa lâm sàng |

**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 SÀNG LỌC HIV MIỄN DỊCH TỰ ĐỘNG**

**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 xét nghiệm sàng lọc HIV 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.

- Xét nghiệm HIV ComPT dùng để định tính kháng nguyên HIV1 p24, kháng thể HIV1 và HIV2 trong huyết thanh hoặc huyết tương người. ***Đây là xét nghiệm sàng lọc nhiễm HIV, không phải là xét nghiệm để khẳng định người bệnh nhiễm HIV.***

**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.

- HIV: Human Imunoglubin virus. Vi rút gây hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải ở người.

- HIV ComPT: Xét nghiệm phát hiện kháng nguyên HIV1-P24 và kháng thể

HIV1.

- HT: Huyết thanh.

- Htg: Huyết tương.

- KN: Kháng nguyên.

- KT: Kháng thể.

- KQ: Kết quả.

- XN: Xét nghiệm.

**5. Nguyên lý**

- Tổng thời gian phản ứng và phân tích xét nghiệm trên máy: 27 phút.

- Thời kỳ ủ đầu tiên: Tiền xử lý 40 μL mẫu với chất tẩy rửa.

- Thời kỳ ủ thứ 2: KT đơn dòng kháng p24/ KN tái tổ hợp đặc hiệu HIV/ peplide đặc hiệu HIV đánh dấu biotin và KT đơn dòng kháng p24/ KN tái tổ hợp đặc hiệu HIV/ peptida đặc hiệu HIV đánh dấu phức hợp ruthenium phản ứng với nhau tạo thành phức hợp bắt cặp.

- Thời kỳ ủ thứ 3: Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin, phức hợp miễn dịch trên trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin.

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

- Các kết quả được xác định tự động nhờ phần mềm bằng cách so sánh tín hiệu điện hóa phát quang thu được từ sản phẩm phản ứng của mẫu với tín hiệu giá trị ngưỡng phản ứng thu được trước đó quan việc chuẩn xét nghiệm.

**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 HIV ComPT | x | x | x |
| Chất chuẩn HIV ComPT (Theo hộp hóa chất) | x | x | x |
| QC HIV ComPT (3 mức) | 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, hộp an toàn.

- 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

- Bệnh nhân phải được tư vấn trước khi chỉ định làm xét nghiệm HIV.

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

*Lưu ý*: Ống nghiệm không có chất chống đông/ ống EDTA/ Heparin.

- 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 số 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. Huyết tương được lấy bằng cách sử dụng ống có chất chống đông EDTA hoặc Heparin rồi ly tâm 3000 vòng/3 phút.

- 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**

***10.1. Diễn giải kết quả***

- Mẫu có chỉ số ngưỡng phản ứng < 0.9 COI là mẫu không có phản ứng trong xét nghiệm elecsys HIV COMPT. Các mẫu này được xem là âm tính đối với KN HIV1 và KT đặc hiệu kháng HIV 1/2 và không cần xét nghiệm thêm.

- Mẫu có chỉ số ngưỡng phản ứng ≥ 1.0 COI được xem là mẫu có phản ứng trong xét nghiệm elecsys HIV COMPT.

- Mẫu có chỉ số ngưỡng phản ứng nằm trong khoảng từ 0.9 COI đến 1.0 COI được xem như mấp mé ngưỡng trong xét nghiệm Elecsys HIV COMPT. Tất cả các mẫu có phản ứng ban đầu hoặc mấp mé ngưỡng phải được xét nghiệm lại 2 lần bằng xét nghiệm elecsys HIV COMPT.

+ Nếu cả 2 lần có chỉ số ngưỡng phản ứng < 0.9 COI → mẫu được xem là âm tính với KN HIV1 và KT đặc hiệu kháng HIV 1/2.

+Nếu mẫu chạy 1 lần có chỉ số ngưỡng phản ứng ≥ 0.9 COI hay cả 2 lần tái xét nghiệm đều được xem là có phản ứng lặp lại. Các mẫu này cần được gửi xét nghiệm khẳng định.

***10.2. Báo cáo kết quả***

10.2.1. Cách trả kết quả trên phần mềm và in trên bản giấy

- Nếu kết quả < 0.9: Trả giá trị COI máy đo được và phiên giải "Âm tính".

Ví dụ: 0.234: Âm tính

- Nếu kết quả > 0.9: Trả kết quả giá trị COI và phiên giải "Có phản ứng". Đề nghị tư vấn, chuyển BN hoặc mẫu đi làm khẳng định.

Ví dụ: 123: Có phản ứng (đề nghị tư vấn làm xét nghiệm khẳng định.)

10.2.2. Trao đổi thông tin và trả kết quả bằng bản in trên giấy đối với kết quả có phản ứng

- Đối với bệnh nhân tại các khoa lâm sàng :

+ Thông báo kết quả có phản ứng qua điện thoại: Ngay sau khi có kết quả xét nghiệm, nhân viên thực hiện chỉ thông báo cho Trưởng khoa/Điều dưỡng trưởng/Bác sỹ chỉ định. Trưởng khoa/Điều dưỡng trưởng/Bác sỹ chỉ định chủ động xem xét kết quả HIV của bệnh nhân trên phần mềm hệ thống mạng bệnh viện.

+ In kết quả, ký duyệt, cho vào bao thư gửi trả: Trưởng khoa/Điều dưỡng trưởng/Bác sỹ điều trị và có ký nhận theo (biểu mẫu phụ lục I). Trên bao thư ghi rõ nội dung:

• Nơi gửi: Khoa Hóa Sinh - Vi Sinh

• Nơi nhận: Trưởng khoa/Điều dưỡng trưởng/Tên bác sỹ chỉ định/Tên khoa

- Bệnh nhân có kết quả HIV có phản ứng tại phòng khám: Bàn giao kết quả cho bộ phận trả kết quả huyết học.Trên bao thư ghi rõ nội dung:

+ Nơi gửi: Khoa Hóa Sinh - Vi Sinh

+ Nơi nhận: Tên bác sỹ chỉ định/Tên phòng khám.

- Trong trường hợp cấp cứu các khoa phòng chủ động lấy kết quả, người kí nhận bao thư là nhân viên y tế lấy kết quả.

- Trong hiến máu trao đổi và trả kết quả cho người chỉ định lưu ý: Người được làm xét nghiệm HIV phải được người chỉ định tư vấn trước khi chỉ định xét nghiệm.

- Người đóng phong bì: Sau khi nhận định, kí duyệt kết quả xét nghiệm nhân viên thực hiện xét nghiệm đóng phong bì và có nhiệm vụ bàn giao cho các bên liên quan.

- Kết quả xét nghiệm HIV sẽ chỉ bàn giao 1 lần cho Trưởng khoa/Điều dưỡng trưởng/Bác sỹ chỉ định.

- Khi kí nhận sổ giao nhận kết quả, thất lạc kết quả ở khoa/phòng/bộ phận nào thì ở khoa/phòng/bộ phận đó phải chịu trách nhiệm.

- Đối với các mẫu cần chuyển gửi thực hiện lấy thông tin theo biểu mẫu và đóng gói vận chuyển theo "Quy trình bảo quản, đóng gói, vận chuyển mẫu bệnh phẩm HIV gửi khẳng định" mã số QTKT.HSVS.03.

**11. Lưu ý**

Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:

- Xét nghiệm bị ảnh hưởng bởi vàng da:

+ Bilirubin 1026 μmol/L hoặc < 60mg/dL.

+ Tán huyết: Hb < 0.310 mmol/L hoặc < 500mg/dL.

+ Lipit huyết < 1500 mg/dL và biotin < 123 mmol/L hoặc < 30 ng/mL.

- Ở BN dùng liều cao biotin > 5 mg/ngày cần dừng thuốc tối thiểu 8h trước khi lấy mẫu.

- Trong một số trường hợp nhiễu có thể xảy ra do nồng độ KT kháng KT đặc hiệu kháng chất 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.

- Mẫu có phản ứng được hút lưu tủ âm sâu bảo quản 2 năm. Mẫu phản ứng được đánh số, xếp vào giá theo đúng số thứ tự trong sổ lưu mẫu có phản ứngtheo "Quy trình lưu hủy mẫu" mã số QTKT.HSVS.01.

**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 | QTKT.HSVS.01 | Quy trình lưu hủy mẫu |
| 8 | QTKT.HSVS.03 | Quy trình bảo quản, đóng gói, vận chuyển mẫu bệnh phẩm HIV gửi khẳng định |
| 9 | Biểu mẫu Phụ lục I | Biểu mẫu giao nhận kết quả xét nghiệm HIV có phản ứng |
| 10 | XN-QTQL 5.12.2 | Quy trình hướng dẫn an toàn |
| 11 | XN-QTQL 5.8.5 | Quy trình nội kiểm tra chất lượng xét nghiệm |
| 12 | XN-QTQL 5.8.6 | Quy trình ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm |

**14. Tài liệu tham khảo**

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

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

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

**Phụ lục I: Biểu mẫu giao nhận kết quả xét nghiệm HIV có phản ứng**

1. Mã bệnh nhân:

2. Ngày, giờ chỉ định:

3. Khoa/phòng chỉ định:

4.Bác sĩ chỉ định:

5. Người thực hiện kĩ thuật:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Trả kết quả dạng bản giấy | | | | | |
| Lần 1 | | | Lần 2 | | |
| Ngày giờ | Nhân viên thực hiện XN (Ký nhận) | Nhân viên được giao nhận trả KQ (Ký nhận) | Ngày giờ | Nhân viên được giao trả KQ (Ký nhận) | Người nhận KQ theo thẩm quyền (Ký nhận) |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

**\*Ghi chú:**

1. Để đảm bảo tính bảo mật kết quả HIV chỉ in và trả kết quả 1 lần duy nhất.

2. Người giao kết quả phải chịu trách nhiệm về tính toàn vẹn và bảo mật thông tin của kết quả xét nghiệm trong bao bì:

- Lần 1: Kết quả được giao nhận từ phòng kĩ thuật đến người trả kết quả.

- Lần 2: Trả kết quả giữa bộ phận trả kết quả và các khoa phòng lâm sàng.

3. Trưởng khoa/Điều dưỡng trưởng/Bác sỹ chỉ định có trách nhiệm ký nhận, bóc bao thư để tư vấn kết quả XN HIV miễn dịch tự động

cho bệnh nhân hoặc người giám hộ. Trường hợp Trưởng khoa/Điều dưỡng trưởng/Bác sỹ chỉ định không có mặt tại khoa phòng, người ký nhận có thể là nhân viên khác của khoa, có trách nhiệm nhận bao thư, gửi tới Trưởng khoa/Điều dưỡng trưởng/Bác sỹ chỉ định trong thời gian sớm nhất.