BỆNH VIỆN ĐA KHOA TỈNH LÀO CAI

KHOA HÓA SINH – VI SINH

****

**QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM ĐỊNH LƯỢNG HE4**

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

**QTKT.MD.62**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **Người biên soạn** | **Người xem xét** | **Lãnh đạo bệnh viện phê duyệt** |
| Họ và tên | **CNXN. Nguyễn Hồng Minh** | **BSCKI. Hồ Thị Phi Nga** | **BSCKII. Phạm Văn Thinh** |
| Chữ ký |  |  |  |
|  | **BSCKI. Nguyễn Huy Hà** |
| Chữ ký |  |
| Ngày ký | 09/08/2023 | 11/08/2023 | 15/08/2023 |
| Ngày có hiệu lực: 16/08/2023 Lần sửa đổi: | | | |
| *Tài liệu nội bộ* | | | |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Logo-Bvlc-BW135** | **QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM ĐỊNH LƯỢNG HE4 TRÊN HỆ THỐNG MÁY COBAS E411/E601/E602** | Mã số: QTKT.MD.62  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 HE4**

**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 HE4 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, Bệnh viện Đa khoa tỉnh Lào Cai.

- 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**

***4.1. Định nghĩa***

HE4: Là protein mào tinh hoàn người. Nồng độ HE4 thường tăng cao trong máu người bệnh ung thư buồng trứng.

***4.2. Thuật ngữ, chữ viết tắt***

- HT: Huyết thanh.

- KN: Kháng nguyên.

- KT: Kháng thể.

- QTKT: Quy trình kỹ thuật.

- PreciControl HE4 (huyết thanh kiểm tra).

- QC: Quality Control.

- ATSH: An toàn sinh học.

- BN: Bệnh nhân.

**5. Nguyên lý**

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

- Thời kỳ ủ đầu tiên: 6 µL mẫu thử, kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng HE4 đánh dấu biotin, và kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng HE4 đánh dấu phức hợp rutheniuma tạo thành phức hợp bắt cặp.

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

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

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

**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 HE4 | x | x | x |
| Chất chuẩn HE4 | x | x | x |
| PreciColtrol HE4 | 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: L –calib. Was generated 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 "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, huyết tương được lấy bằng cách sử dụng ống có chất chống đông EDTA hoặc Heparin rồi ly tâm 3000 vòng/10 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**

- Đơn vị đo: pmol/L.

- Khoảng tham chiếu: Bình thường, ở phụ nữ HE4 có giá trị như sau:

+ < 40 tuổi: < 60.5 pmol/L.

+ 40 - 49 tuổi: < 76.2 pmol/L.

+ 50 - 59 tuổi: < 74.3 pmol/L.

+ 60 - 69 tuổi: < 82.9 pmol/L.

+ 70 tuổi < 104 pmol/L.

- HE4 tăng trong ung thư buồng trứng và tăng sớm hơn CA125. HE4 cũng được sử dụng để theo dõi điều trị và là chỉ thị sớm và quan trọng trong sự tái phát của bệnh.

- Ngoài ra còn sử dụng giá trị HE4 và CA125 định lượng được để tinh PI (Chỉ số tiên đoán) và ROM (Xác suất tiên đoán) để phân tầng nguy cơ cho người bệnh.

- 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 15-1500 pmol/L. Nếu kết quả đo được >1500 pmol/L thì tiến hành chạy pha loãng nếu có Diluent MultiAssay. 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 1:20 → tích xét nghiệm HE 4→ 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).

**11. Lưu ý**

Những yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin > 66 mg/dL hay >1130 µmol/L.

- Tán huyết: Hemoglobin > 1000 mg/dL.

- Intralipid > 2000mg/dL.

- Biotin > 120 ng/mL.

- Bệnh nhân dùng Biotin liều cao (> 5 mg/ngày) cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

- RF >1500 IU/mL.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

**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 của Bệnh viện đa khoa tỉnh Lào Cai.