

QUY TRÌNH

ĐỊNH LƯỢNG HUMAN C1- INHIBITOR

I. NGUYÊN LÝ

Là 1 phản ứng hóa miễn dịch, protein chứa trong huyết tương người hoặc huyết thanh tạo ra một phức hợp miễn dịch với kháng thể đặc biệt. Phức hợp này sẽ phản xạ ánh sáng xuyên qua mẫu, cường độ của ánh sáng phản xạ tỉ lệ với nồng độ của protein cần đo trong mẫu. Kết quả được so sánh với một chất chuẩn đã biết nồng độ.

C1 Inhibitor là một chất điều hòa quan trọng trong quá trình hoạt hóa bổ thể, nó ức chế hoạt động của enzyme serine proteases C1s and C1r4. Định lượng C1 inhibitor hỗ trợ trong việc chẩn đoán bệnh phù mạch do di truyền (tăng tính thấm mạch máu dẫn tới sưng mô) và một dạng phù mạch liên quan tới bệnh u lympho. Thiếu hụt C1 Inhibitor xảy ra với các bệnh về hệ thống tế bào B, có thể liên quan tới mức độ C1 Inhibitor giảm như bệnh bạch cầu lympho mạn, hoặc đa u tủy

II. CHUẨN BỊ

1. Cán bộ thực hiện: 01 Bác sỹ hoặc 01 cán bộ đại học và 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Máy phân tích: BN ProSpec

Máy ly tâm

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

Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

- Thuốc thử chính: N Antiserum to Human C1-Inhibitor. Đóng gói: 1 x 2 mL. Thành phần: huyết thanh động vật dưới dạng lỏng và được sản xuất bằng việc tạo miễn ở thỏ với C1 Inhibitor người đã được làm tinh khiết. Nồng độ của kháng thể hoạt động là < 3 g/L

- Hóa chất được yêu cầu nhưng không được cung cấp:

Chất chuẩn N Protein Standard PY (human)

Chất kiểm chuẩn N/T Protein Control PY (human)

Chất đệm N Reaction Buffer

Chất pha loãng N Diluent

N Supplementary Reagent/Precipitation

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm;

- Găng tay, nước rửa tay, khăn lau tay, khẩu trang;
- Bông, cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu, dây ga rô.

3. Người bệnh: Cần giải thích mục đích của xét nghiệm để bệnh nhân và người nhà bệnh hiểu, từ đó có thể hợp tác trong quá trình lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về bệnh nhân bao gồm họ tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, ngày giờ chỉ định, ngày giờ lấy mẫu, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm và xử lý mẫu bệnh phẩm

Thực hiện trên mẫu máu: huyết tương xitrat và huyết thanh người

Mẫu càng mới càng tốt (lưu tại nhiệt độ 2 đến 8 °C không quá 7 ngày) hoặc mẫu được trữ đông. Mẫu huyết thanh và huyết tương có thể được lưu dưới -20 °C đến 3 tháng nếu mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và cần tránh chu trình kết đông-xả đông

Mẫu huyết thanh cần được làm đông hoàn toàn và sau khi li tâm không được chứa bất kỳ hạt nhỏ nào hoặc dấu tích của fibrin. Mẫu mỡ máu hoặc bị đục sau khi đã đông cần được làm trong bằng ly tâm (10 phút ở 15,000 x g).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn: dựa trên 6 điểm với các nồng độ khác nhau

Phân tích QC: ở cả 2 level. Khi QC đạt mới tiến hành phân tích mẫu

Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm C1 Inhibitor. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm C1 Inhibitor. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm C1 Inhibitor đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

2.2. Phân tích mẫu

- Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ
- Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm
- Đánh số (hoặc ID của bệnh nhân); chọn test và vận hành theo protocol máy sẽ tự động phân tích

Mẫu được pha loãng tự động 1:5 bằng N Diluent và cần được đo trong vòng 4 giờ.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Khoảng tham chiếu:

Mẫu huyết tương Citrat: 0.18 - 0.32 g/L

Mẫu huyết thanh: 0.21 - 0.39 g/L.

Phòng xét nghiệm nên tự quyết định khoảng tham chiếu riêng phù hợp với nhóm dân cư của địa phương.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả khi: Mẫu máu bị huyết tán, mẫu mỡ máu hoặc bị đục do chứa các hạt nhỏ

- Xử trí: Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu, mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại, yêu cầu lấy mẫu máu khác để xét nghiệm. Không sử dụng các mẫu máu nhiễm mỡ và đục mà không thể làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại 15,000xg)