

QUY TRÌNH

N.522. ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG Cardiolipin IgG/IgM

N.522. QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG CARDIOLIPIN IgG

I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm dựa trên phản ứng miễn dịch gắn enzyme gián tiếp theo các bước sau: Các kháng thể có mặt trong mẫu dương tính gắn với kháng nguyên phủ trên bề mặt của hai giếng phản ứng, hình thành phức hợp kháng nguyên- kháng thể. Sau khi ủ, bước rửa đầu tiên sẽ loại bỏ các phân tử không gắn và gắn không đặc hiệu. Tiếp đó, chất cộng hợp enzyme được bổ sung sẽ gắn với phức hợp kháng nguyên - kháng thể đã được cố định. Sau khi ủ, bước rửa thứ hai sẽ loại bỏ chất cộng hợp không gắn. Cơ chất enzyme tiếp tục được thêm vào giếng, quá trình thủy phân và tạo màu diễn ra trong thời gian ủ. Cường độ màu xanh dương tạo ra tỉ lệ thuận với nồng độ của phức hợp kháng nguyên-kháng thể và có thể đo bằng phương pháp quang học ở bước sóng 650 nm trên hệ thống xét nghiệm miễn dịch ELISA (Enzymelinked immunosorbant assay)

II. CHUẨN BỊ

1. Cán bộ thực hiện:

01 bác sĩ hoặc 01 cán bộ đại học và 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh.

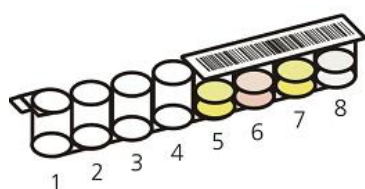
2. Phương tiện, hóa chất:

Phương tiện xét nghiệm: máy xét nghiệm miễn dịch Alegria- hãng ORGENTEC/ Germany.

Thuốc thử sẵn sàng sử dụng:

Bộ xét nghiệm định lượng Anti- Cardiolipin IgG như sau:

Thanh thử Alegria gồm 8 giếng chứa các thành phần sau:



Giếng 1 + 2 Giếng trống và không phủ (để pha loãng mẫu)

Giếng 3 + 4 Được phủ kháng nguyên (giếng phản ứng)

Giếng 5 Mẫu chứng, màu vàng, chứa kháng thể đặc hiệu, PBS, BSA, chất tẩy, chất bảo quản natri azide 0,09% và ProClin 300 0,05%.

Giếng 6 Chất cộng hợp enzyme, màu đỏ nhạt, chứa kháng thể kháng IgG người gắn HRP; PBS, BSA, chất tẩy, chất bảo quản ProClin 300 0,05%.

Giếng 7 Dung dịch pha loãng mẫu, màu vàng, chứa PBS, BSA, chất tẩy, chất bảo quản natri azide 0,09% và ProClin 300 0,05%.

Giếng 8 Cơ chất TMB, trong suốt, chứa 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin

Cardiolipin độ tinh sạch cao phủ sẵn trong các vi giếng bão hòa với beta-2-glycoprotein I.

Mã sản phẩm trên mã vạch: Cardiolipin IgG

- Ngoài ra còn dung dịch hệ thống như:

+ Wash (1x20mL): Dung dịch rửa, chứa TRIS, detergent, chất bảo quản natri azide 0,09% (50x)

+ System fluid (1x2,5mL): Dung dịch hệ thống chứa acid (1000x).

- Bộ xét nghiệm cần được bảo quản trong bóng tối ở điều kiện 2-8°C. Không để hóa chất tiếp xúc với nhiệt, mặt trời hoặc ánh sáng mạnh trong suốt quá trình bảo quản và sử dụng. Bảo quản thanh thử Alegria (đậy kín và khô ráo) trong túi có khóa được cung cấp. Dung dịch Wash Buffer và System Fluid sau khi pha loãng ổn định trong tối thiểu 30 ngày khi được bảo quản ở 2-8°C.

Dụng cụ khác: + Máy vortex; Pipet 10 µL;

+ Ống đong thể tích 1000 mL và 2500 mL

+ Nước cất hoặc nước khử ion

3. Người bệnh: Người bệnh được giải thích và tư vấn trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

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 mẫu bệnh phẩm và xử lý mẫu:

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống xét nghiệm tiêu chuẩn. Sử dụng ống không chống đông (ống serum) hoặc sử dụng ống có chất chống đông Li-Heparine, EDTA.

- Bệnh phẩm được nhận từ các khoa lâm sàng và bộ phận lấy mẫu phòng khám. Nhân viên nhận mẫu lấy thông tin bệnh nhân từ phần mềm quản lý Bệnh viện, in và dán barcode vào ống bệnh phẩm, sau đó cho ly tâm 4000 vòng trong 5 phút trước khi tiến hành kỹ thuật.

Bệnh phẩm có thể được lưu ở 2-8°C trong vòng 5 ngày hoặc -20°C trong vòng 6 tháng.

Bảo quản chất chuẩn, QC sau khi hoàn nguyên ở nhiệt độ -20°C, khi tiến hành chạy phải để ở nhiệt độ phòng (20- 25°C) cho đến khi rã đông hoàn toàn và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

Máy xét nghiệm, hóa chất đã được chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Việc chuẩn xét nghiệm định lượng Anti- cardiolipin IgG hiệu chuẩn mỗi khi thay đổi lô hóa chất. Kiểm tra chất lượng nằm trong giới hạn cho phép. Thông thường chạy nội kiểm (QC) 2 mức mỗi ngày: mức bình thường và không bình thường. Đối chiếu với luật về kiểm tra chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu .

Thanh thử Alegria Test Strips với công nghệ SMC được sử dụng với thiết bị chẩn đoán Alegria. Để có thông tin chi tiết về quy trình vận hành thiết bị, tham khảo tài liệu hướng dẫn sử dụng thiết bị.

(1) Bóc miếng dán phủ các giếng trống từ 1 đến 4 trên thanh thử Alegria Test Strips. Không bóc phần dán phủ có in mã vạch, phủ các giếng từ 5 đến 8.

(2) Hút 10 µL mẫu không pha loãng vào đáy giếng 1.

(4) Đặt thanh thử vào khay SysTray.

(5) Đặt các khay SysTray vào đúng vị trí trên thiết bị Alegria và bắt đầu chạy. Tất cả các bước sau đó sẽ được thực hiện tự động. Xét nghiệm chạy hoàn tất khi thiết bị bắt đầu in kết quả.

Định kỳ: Chuẩn lại và chạy 2 mức QC sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi kết quả chuẩn máy xét nghiệm.

Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm, trả, lưu kết quả vào hệ thống mạng, in phiếu kết quả xét nghiệm và trả kết quả cho người bệnh đúng thời gian quy định.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu: Bình thường: Anti- Cardiolipin IgG : < 10 GPL-U/mL

2. Ý nghĩa lâm sàng:

Hội chứng kháng phospholipid (APS, hội chứng Hughes) là một bệnh tự miễn hệ thống gây ra tình trạng huyết khối, sảy thai liên tiếp và thai chết lưu. Các triệu chứng lâm sàng đi kèm với sự xuất hiện các tự kháng thể đặc hiệu có khả năng phát hiện được trong máu bệnh nhân bị APS.

Các tự kháng thể này gắn với phospholipid như cardiolipin hoặc phospholipid gắn protein như beta-2-glycoprotein I.

Hội chứng kháng phospholipid (APS, hội chứng Hughes) là một bệnh tự miễn hệ thống gây ra tình trạng huyết khối, sảy thai liên tiếp và thai chết lưu. Các triệu chứng lâm sàng đi kèm với sự xuất hiện các tự kháng thể đặc hiệu có khả năng phát hiện được trong máu bệnh nhân bị APS. Các tự kháng thể này gắn với phospholipid như cardiolipin hoặc với các protein gắn phospholipid như beta-2-glycoprotein I.

Triệu chứng lâm sàng của APS không đủ đặc hiệu để đưa ra chẩn đoán xác định. Do đó, kết quả xét nghiệm đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán bệnh. Ủy ban khoa học và chuẩn hóa của hiệp hội quốc tế huyết khối và cầm máu định nghĩa về các tiêu chí lâm sàng và những thông số xét nghiệm mang tính chẩn đoán trong “Tiêu chí Sapporo về việc phân loại hội chứng kháng phospholipid”, xuất bản năm 1999. Tài liệu này đã được chỉnh sửa và tái bản năm 2006 và 2012.

Các thông số xét nghiệm bao gồm:

(1) Phát hiện chất kháng đông lupus (LA) trong huyết tương tăng gấp hai lần trong vòng 12 tuần

(2) Tăng hiệu giá kháng thể kháng cardiolipin (IgG và/hoặc IgM). Cần xác định hiệu giá kháng thể ở hai thời điểm cách nhau ít nhất 12 tuần, sử dụng xét nghiệm ELISA đã được chuẩn hóa để phát hiện kháng thể kháng cardiolipin phụ thuộc beta-2-glycoprotein.

(3) Tăng hiệu giá kháng thể kháng beta-2-glycoprotein I (IgG và/hoặc IgM). Cần xác định hiệu giá kháng thể ở hai thời điểm cách nhau ít nhất 12 tuần, sử dụng xét nghiệm ELISA đã được chuẩn hóa.

APS được chẩn đoán xác định khi đảm bảo đáp ứng ít nhất một tiêu chí lâm sàng và một tiêu chí xét nghiệm.

Sự xuất hiện của kháng thể kháng cardiolipin ở bệnh lupus ban đỏ hệ thống có thể liên quan đến việc giảm tiểu cầu và huyết khối tiến triển. Trong sản khoa, chúng có thể gây ra thai chết lưu hoặc hồng thai liên tiếp. Hơn thế nữa, kháng thể anti-cardiolipin còn được phát hiện trong các bệnh về thần kinh như thiếu năng tuần hoàn não, thiếu máu não cục bộ, động kinh hoặc múa giật.

Tự kháng thể kháng cardiolipin là những globulin miễn dịch lớp IgG, IgM, hoặc IgA. Việc xác định kháng thể IgM là một chỉ điểm có giá trị trong chẩn đoán giai đoạn mới mắc bệnh tự miễn, trong khi kháng thể IgG xuất hiện trong giai đoạn tiến triển của bệnh. Việc xác định kháng thể IgA dường như có tầm quan trọng lớn hơn trên cộng đồng người ở vùng African-Caribbean.

Định lượng kháng thể kháng cardiolipin, đặc biệt là IgG, cho thấy độ đặc hiệu cao trong theo dõi điều trị APS thứ phát liên quan đến SLE.

Các dấu hiệu lâm sàng định hướng xác định kháng thể kháng cardiolipin là: SLE, huyết khối, giảm tiểu cầu, thiếu máu não cục bộ, múa giật, động kinh, hồng thai liên tiếp, thai chết lưu.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Sử dụng bệnh phẩm máu toàn phần thu thập bằng các kỹ thuật được phê duyệt, tránh gây vỡ hồng cầu.

Mẫu huyết thanh dùng cho xét nghiệm phải trong và không bị vỡ hồng cầu. Tránh sử dụng các mẫu vỡ hồng cầu hoặc mẫu nhiễm mỡ, tuy nhiên, các mẫu này không gây nhiễu xét nghiệm.

Tránh lặp lại bước làm đông và rã đông mẫu huyết thanh hoặc huyết tương do có thể làm giảm hoạt tính của kháng thể.

Không khuyến cáo thực hiện xét nghiệm với mẫu huyết thanh đã bị bất hoạt bởi nhiệt.

N.522. QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG CARDIOLIPIN IgM

I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm dựa trên phản ứng miễn dịch gắn enzyme gián tiếp theo các bước sau: Các kháng thể có mặt trong mẫu dương tính gắn với kháng nguyên phủ trên bề mặt của hai giếng phản ứng, hình thành phức hợp kháng nguyên- kháng thể. Sau khi ủ, bước rửa đầu tiên sẽ loại bỏ các phân tử không gắn và gắn không đặc hiệu. Tiếp đó, chất cộng hợp enzyme được bổ sung sẽ gắn với phức hợp kháng nguyên - kháng thể đã được cố định. Sau khi ủ, bước rửa thứ hai sẽ loại bỏ chất cộng hợp không gắn. Cơ chất enzyme tiếp tục được thêm vào giếng, quá trình thủy phân và tạo màu diễn ra trong thời gian ủ. Cường độ màu xanh dương tạo ra tỉ lệ thuận với nồng độ của phức hợp kháng nguyên-kháng thể và có thể đo bằng phương pháp quang học ở bước sóng 650 nm trên hệ thống xét nghiệm miễn dịch ELISA (Enzymelinked immunosorbant assay)

II. CHUẨN BỊ

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

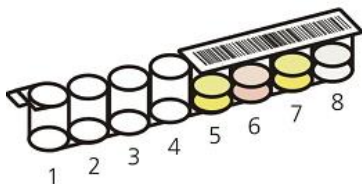
2. Phương tiện, hóa chất:

Phương tiện: máy xét nghiệm miễn dịch Alegria- hãng ORGENTEC/ Germany.

Thuốc thử sẵn sàng sử dụng:

Bộ xét nghiệm định lượng Anti- cardiolipin IgM như sau:

Thanh thử Alegria gồm 8 giếng chứa các thành phần sau:



Giếng 1 + 2 Giếng trống và không phủ (để pha loãng mẫu)

Giếng 3 + 4 Được phủ kháng nguyên (giếng phản ứng)

Giếng 5 Mẫu chứng, màu vàng, chứa kháng thể đặc hiệu, PBS, BSA, chất tẩy, chất bảo quản natri azide 0,09% và ProClin 300 0,05%.

Giếng 6 Chất cộng hợp enzyme, màu đỏ nhạt, chứa kháng thể kháng IgG người gắn HRP; PBS, BSA, chất tẩy, chất bảo quản ProClin 300 0,05%.

Giếng 7 Dung dịch pha loãng mẫu, màu vàng, chứa PBS, BSA, chất tẩy, chất bảo quản natri azide 0,09% và ProClin 300 0,05%.

Giếng 8 Cơ chất TMB, trong suốt, chứa 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin

Cardiolipin độ tinh sạch cao phủ sẵn trong các vi giếng bảo hòa với beta-2-glycoprotein I.

Mã sản phẩm trên mã vạch: Cardiolipin IgM

- Ngoài ra còn dung dịch hệ thống như:

+ Wash (1x20mL): Dung dịch rửa, chứa TRIS, detergent, chất bảo quản natri azide 0,09% (50x)

+ System fluid (1x2,5mL): Dung dịch hệ thống chứa acid (1000x).

- Bộ xét nghiệm cần được bảo quản trong bóng tối ở điều kiện 2-8°C. Không để hóa chất tiếp xúc với nhiệt, mặt trời hoặc ánh sáng mạnh trong suốt quá trình bảo quản và sử dụng. Bảo quản thanh thử Alegria (đậy kín và khô ráo) trong túi có khóa được cung cấp. Dung dịch Wash Buffer và System Fluid sau khi pha loãng ổn định trong tối thiểu 30 ngày khi được bảo quản ở 2-8°C.

Dụng cụ khác: + Máy vortex; Pipet 10 µL;

+ Ống đong thể tích 1000 mL và 2500 mL

+ Nước cất hoặc nước khử ion

3. Người bệnh: Người bệnh được giải thích và tư vấn trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

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 mẫu bệnh phẩm và xử lý mẫu:

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống xét nghiệm tiêu chuẩn. Sử dụng ống không chống đông (ống serum) hoặc sử dụng ống có chất chống đông Li-Heparine, EDTA.

- Bệnh phẩm được nhận từ các khoa lâm sàng và bộ phận lấy mẫu phòng khám. Nhân viên nhận mẫu lấy thông tin bệnh nhân từ phần mềm quản lý Bệnh viện, in và dán barcode vào ống bệnh phẩm, sau đó cho ly tâm 4000 vòng trong 5 phút trước khi tiến hành kỹ thuật.

Bệnh phẩm có thể được lưu ở 2-8°C trong vòng 5 ngày hoặc -20°C trong vòng 6 tháng.

Bảo quản chất chuẩn, QC sau khi hoàn nguyên ở nhiệt độ -20°C, khi tiến hành chạy phải để ở nhiệt độ phòng (20- 25°C) cho đến khi rã đông hoàn toàn và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

Máy xét nghiệm, hóa chất đã được chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Việc chuẩn xét nghiệm định lượng Anti- cardiolipin IgM hiệu chuẩn mỗi khi thay đổi lô hóa chất. Kiểm tra chất lượng nằm trong giới hạn cho phép. Thông thường chạy nội kiểm (QC) 2 mức mỗi ngày: mức bình thường và không bình thường. Đối chiếu với luật về kiểm tra chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu .

Thanh thử Alegria Test Strips với công nghệ SMC được sử dụng với thiết bị chẩn đoán Alegria. Để có thông tin chi tiết về quy trình vận hành thiết bị, tham khảo tài liệu hướng dẫn sử dụng thiết bị.

(1) Bóc miếng dán phủ các giếng trống từ 1 đến 4 trên thanh thử Alegria Test Strips. Không bóc phần dán phủ có in mã vạch, phủ các giếng từ 5 đến 8.

(2) Hút 10 µL mẫu không pha loãng vào đáy giếng 1.

(3) Đặt thanh thử vào khay SysTray.

(4) Đặt các khay SysTray vào đúng vị trí trên thiết bị Alegria và bắt đầu chạy. Tất cả các bước sau đó sẽ được thực hiện tự động. Xét nghiệm chạy hoàn tất khi thiết bị bắt đầu in kết quả.

Định kỳ: Chuẩn lại và chạy 2 mức QC sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi kết quả chuẩn máy xét nghiệm.

Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm, trả, lưu kết quả vào hệ thống mạng, in phiếu kết quả xét nghiệm và trả kết quả cho người bệnh đúng thời gian quy định.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu: Bình thường: Anti- Cardiolipin IgM : < 7 MPL-U/mL

2. Ý nghĩa lâm sàng

Hội chứng kháng phospholipid (APS, hội chứng Hughes) là một bệnh tự miễn hệ thống gây ra tình trạng huyết khối, sảy thai liên tiếp và thai chết lưu. Các triệu chứng lâm sàng đi kèm với sự xuất hiện các tự kháng thể đặc hiệu có khả năng phát hiện được trong máu bệnh nhân bị APS.

Các tự kháng thể này gắn với phospholipid như cardiolipin hoặc với các protein gắn phospholipid như beta-2-glycoprotein I.

Triệu chứng lâm sàng của APS không đủ đặc hiệu để đưa ra chẩn đoán xác định. Do đó, kết quả xét nghiệm đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán bệnh. Ủy ban khoa học và chuẩn hóa của hiệp hội quốc tế huyết khối và cầm máu định nghĩa về các tiêu chí lâm sàng và những thông số xét nghiệm mang tính chẩn đoán trong “Tiêu chí Sapporo về việc phân loại hội chứng kháng phospholipid”, xuất bản năm 1999. Tài liệu này đã được chỉnh sửa và tái bản năm 2006 và 2012.

Các thông số xét nghiệm bao gồm:

(1) Phát hiện chất kháng đông lupus (LA) trong huyết tương tăng gấp hai lần trong vòng 12 tuần

(2) Tăng hiệu giá kháng thể kháng cardiolipin (IgG và/hoặc IgM). Cần xác định hiệu giá kháng thể ở hai thời điểm cách nhau ít nhất 12 tuần, sử dụng xét nghiệm ELISA đã được chuẩn hóa để phát hiện kháng thể kháng cardiolipin phụ thuộc beta-2-glycoprotein.

(3) Tăng hiệu giá kháng thể kháng beta-2-glycoprotein I (IgG và/hoặc IgM). Cần xác định hiệu giá kháng thể ở hai thời điểm cách nhau ít nhất 12 tuần, sử dụng xét nghiệm ELISA đã được chuẩn hóa.

APS được chẩn đoán xác định khi đảm bảo đáp ứng ít nhất một tiêu chí lâm sàng và một tiêu chí xét nghiệm.

Sự xuất hiện của kháng thể kháng cardiolipin ở bệnh lupus ban đỏ hệ thống có thể liên quan đến việc giảm tiểu cầu và huyết khối tiến triển. Trong sản khoa, chúng có thể gây ra thai chết lưu hoặc hỏng thai liên tiếp. Hơn thế nữa, kháng thể anti-cardiolipin còn được phát hiện trong các bệnh về thần kinh như thiếu năng tuần hoàn não, thiếu máu não cục bộ, động kinh hoặc múa giật.

Tự kháng thể kháng cardiolipin là những globulin miễn dịch lớp IgG, IgM, hoặc IgA. Việc xác định kháng thể IgM là một chỉ điểm có giá trị trong chẩn đoán giai đoạn mới mắc bệnh tự miễn, trong khi kháng thể IgG xuất hiện trong giai đoạn tiến triển của bệnh. Việc xác định kháng thể IgA dường như có tầm quan trọng lớn hơn trên cộng đồng người ở vùng African-Caribbean.

Định lượng kháng thể kháng cardiolipin, đặc biệt là IgG, cho thấy độ đặc hiệu cao trong theo dõi điều trị APS thứ phát liên quan đến SLE.

Các dấu hiệu lâm sàng định hướng xác định kháng thể kháng cardiolipin là: SLE, huyết khối, giảm tiểu cầu, thiếu máu não cục bộ, múa giật, động kinh, hỏng thai liên tiếp, thai chết lưu.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Sử dụng bệnh phẩm máu toàn phần thu thập bằng các kỹ thuật được phê duyệt, tránh gây vỡ hồng cầu.

Mẫu huyết thanh dùng cho xét nghiệm phải trong và không bị vỡ hồng cầu. Tránh sử dụng các mẫu vỡ hồng cầu hoặc mẫu nhiễm mỡ, tuy nhiên, các mẫu này không gây nhiễu xét nghiệm.

Tránh lặp lại bước làm đông và rã đông mẫu huyết thanh hoặc huyết tương do có thể làm giảm hoạt tính của kháng thể.

Không khuyến cáo thực hiện xét nghiệm với mẫu huyết thanh đã bị bất hoạt bởi nhiệt.