

QUY TRÌNH

N571. QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG IgG4

I. NGUYÊN LÝ

Kháng thể IgG người bao gồm 4 dưới lớp IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Sự khác nhau giữa các dưới lớp được thể hiện ở chức năng sinh học khác nhau. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra sự thay đổi nồng độ bất thường của các IgG dưới lớp liên quan tới các giai đoạn bệnh lý khác nhau. Trong khi nồng độ của các IgG dưới lớp có thể có khoảng thay đổi sinh lý lớn, tuy nhiên tỉ lệ của các dưới lớp trong tổng số IgG thường khoảng 60-75% cho IgG1, 15-25% cho IgG2, <10% cho IgG3 và IgG4. Sự giảm của các IgG dưới lớp thường thấy ở bệnh nhân tái phát nhiễm khuẩn đường hô hấp trên và dưới. Sự giảm mạnh của IgG dưới lớp cho thấy sự suy giảm đề kháng miễn dịch.

Hạt Polystyrene được bao với kháng thể IgG4 người tạo kết tủa khi trộn với mẫu chứa IgG4. Phản ứng này phản xạ ánh sáng xuyên qua mẫu. Mức độ tán xạ ánh sáng tỉ lệ với nồng độ của protein cần đo trong mẫu. Kết quả được so sánh với một mẫu chuẩn đã biết nồng độ.

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

2.1. Phương tiện

Máy có thể phân tích: BN ProSpec

Máy ly tâm

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

Pipet các loại

Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

Thuốc thử N Latex IgG4: hỗn dịch của hạt polystyrene bao bởi kháng thể đặc biệt (còn < 1 g/L) kháng lại IgG4.

Hóa chất được ổn định đến ngày ghi trên nắp hộp với điều kiện không mở nắp và bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C. Độ ổn định sau khi mở, bảo quản 2-8°C trong lọ đóng kín là hai tuần.

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 thanh, huyết tương, sử dụng ống chứa chất chống đông Li-heparin hoặc EDTA.

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

Dụng cụ chuẩn: dựa trên 6 điểm với các nồng độ khác nha.

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

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu máu có thể sử dụng càng sớm càng tốt, hoặc bảo quản 2-8°C không quá 8 ngày hoặc 1 tháng khi được làm đông dưới -20°C.

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 sẽ tự động được pha loãng 1:2000 với N Diluent và phải được dùng trong vòng 4 giờ.

Nếu kết quả ngoài khoảng, xét nghiệm lặp lại với mẫu được pha loãng cao hơn hoặc thấp hơn.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Khoảng tham chiếu trên 405 trẻ em khỏe mạnh ở Bắc Mỹ và châu Âu, và 279 người trưởng thành khỏe mạnh từ Châu Âu

Nhóm tuổi	IgG4 (g/L)
≤1 tuổi	0.004 – 0.464

> 1 to ≤ 3 years	0.009 – 0.742
> 3 to ≤ 6 years	0.013 – 1.446
> 6 to ≤ 12 years	0.012 – 1.699
> 12 to ≤ 18 years	0.049 – 1.985
> 18 years	0.03 – 2.01

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả: tán huyết hoặc mỡ máu, mẫu bị đục sau khi rã đông

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.

+ Mẫu bị đục sau khi rã đông cần được làm trong bằng ly tâm (10 phút ở 15,000 x g). Mẫu chứa mỡ máu hoặc bị đục mà không làm trong được bằng ly tâm cần được loại bỏ.