

BỘ Y TẾ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Số: 320 /QĐ-BYT

Hà Nội, ngày 23 tháng 01 năm 2014

QUYẾT ĐỊNH
Về việc ban hành tài liệu
“Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh”

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Luật khám bệnh, chữa bệnh năm 2009;

Căn cứ Nghị định số 63/2012/NĐ-CP ngày 31/8/2012 của Chính Phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Xét Biên bản họp của Hội đồng nghiệm thu Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh chuyên ngành Hóa sinh của Bộ Y tế;

Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh”, gồm 220 quy trình kỹ thuật.

Điều 2. Tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh” ban hành kèm theo Quyết định này được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

Căn cứ vào tài liệu hướng dẫn này và điều kiện cụ thể của đơn vị, Giám đốc cơ sở khám bệnh, chữa bệnh xây dựng và ban hành tài liệu Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật Hóa sinh phù hợp để thực hiện tại đơn vị.

Điều 3. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký ban hành.

Điều 4. Các ông, bà: Chánh Văn phòng Bộ, Chánh Thanh tra Bộ, Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh, Cục trưởng và Vụ trưởng các Cục, Vụ thuộc Bộ Y tế, Giám đốc các bệnh viện, viện có giường bệnh trực thuộc Bộ Y tế, Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc trung ương, Thủ trưởng Y tế các Bộ, Ngành và Thủ trưởng các đơn vị có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 4;
- Bộ trưởng Bộ Y tế (để b/c);
- Các Thứ trưởng BHYT;
- Bảo hiểm Xã hội Việt Nam (để phối hợp);
- Công thông tin điện tử BHYT;
- Website Cục KCB;
- Lưu VT, KCB.

KT. BỘ TRƯỞNG
THỨ TRƯỞNG
Đã ký

Nguyễn Thị Xuyên

DANH MỤC QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHUYÊN NGÀNH HÓA SINH

(Ban hành kèm theo Quyết định số: 320/QĐ-BYT ngày 23 tháng 01 năm 2014 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

| TT | TÊN QUY TRÌNH KỸ THUẬT |
|---------------|---|
| A. MÁU | |
| 1 | Đo hoạt độ ACP (Phosphatase Acid) |
| 2 | Định lượng ACTH |
| 3 | Định lượng Acid Uric |
| 4 | Định lượng ADH (Anti Diuretic Hormone) |
| 5 | Định lượng Adiponectin |
| 6 | Định lượng Aldosteron |
| 7 | Định lượng Albumin |
| 8 | Định lượng Alpha1 Antitrypsin |
| 9 | Đo hoạt độ ALP (Alkalin Phosphatase) |
| 10 | Đo hoạt độ Amylase |
| 11 | Định lượng Amoniac (NH ₃) |
| 12 | Định lượng AMH (Anti- Mullerian Hormone) |
| 13 | Định lượng Anti CCP |
| 14 | Định lượng Anti-Tg (Antibody- Thyroglobulin) |
| 15 | Định lượng Anti - TPO (Anti- thyroid Peroxidase antibodies) |
| 16 | Định lượng Apo A1 (Apolipoprotein A1) |
| 17 | Định lượng Apo B (Apolipoprotein B) |
| 18 | Định lượng AFP (Alpha Fetoproteine) |
| 19 | Đo hoạt độ ALT (GPT) |
| 20 | Đo hoạt độ AST (GOT) |
| 21 | Định lượng α 1 Acid Glycoprotein |
| 22 | Định lượng β 2 microglobulin |
| 23 | Định lượng Beta Crosslap |
| 24 | Định lượng β hCG (Beta human Chorionic gonadotropins) |
| 25 | Định lượng Bilirubin trực tiếp |
| 26 | Định lượng Bilirubin gián tiếp |
| 27 | Định lượng Bilirubin toàn phần |
| 28 | Định lượng BNP (B- Type Natriuretic Peptide) |
| 29 | Định lượng Calci toàn phần |
| 30 | Định lượng Calci ion hoá |
| 31 | Định lượng canci ion hóa bằng điện cực chọn lọc |
| 32 | Định lượng CA 125 (cancer antigen 125) |

| | |
|----|--|
| 33 | Định lượng CA 19 - 9 (carbohydrate antigen 19-9) |
| 34 | Định lượng CA 15 - 3 (cancer antigen 15- 3) |
| 35 | Định lượng CA 72 - 4 (cancer antigen 72- 4) |
| 36 | Định lượng Calcitonin |
| 37 | Định lượng Carbamazepin |
| 38 | Định lượng Ceruloplasmin |
| 39 | Định lượng CEA (carcino embryonic antigen) |
| 40 | Đo hoạt độ Cholinesterase (ChE) |
| 41 | Định lượng Cholesterol toàn phần |
| 42 | Đo hoạt độ CK (Creatine kinase) |
| 43 | Đo hoạt độ CK-MB (Isozym MB of Creatine kinase) |
| 44 | Định lượng CK-MB mass |
| 45 | Định lượng C-Peptid |
| 46 | Định lượng Cortisol |
| 47 | Định lượng Cystatine C |
| 48 | Định lượng bổ thể C3 |
| 49 | Định lượng bổ thể C4 |
| 50 | Định lượng CRP hs (C-reactive protein high sesitivity) |
| 51 | Định lượng Creatinin |
| 52 | Định lượng Cyfra 21- 1 |
| 53 | Định lượng cyclosporin |
| 54 | Định lượng D-Dimer |
| 55 | Định lượng 25OH Vitamin D (D3) |
| 56 | Định lượng Digoxin |
| 57 | Định lượng Digitoxin |
| 58 | Định lượng các chất điện giải (Na, K, Cl) |
| 59 | Định lượng FABD (Fatty acid binding protein) |
| 60 | Định lượng Ethanol (cồn) |
| 61 | Định lượng Estradiol |
| 62 | Định lượng E3 không liên hợp (Unconjugated Estriol) |
| 63 | Định lượng Ferritin |
| 64 | Định lượng Fructosamin |
| 65 | Định lượng FSH (Follicular stimulating hormone) |
| 66 | Định lượng free β HCG (Free Beta Human chorionic gonadotropin) |
| 67 | Định lượng Folate |
| 68 | Định lượng FT ₃ (Free Triiodothyronine) |
| 69 | Định lượng FT ₄ (Free thyroxine) |
| 70 | Định lượng Galectin 3 |
| 71 | Định lượng Gastrin |
| 72 | Đo hoạt độ G6PD (Glucose -6 phosphat dehydrogenase) |

| | |
|-----|--|
| 73 | Định lượng GH (Growth Hormone) |
| 74 | Đo hoạt độ GLDH (Glutamat dehydrogenase) |
| 75 | Định lượng Glucose |
| 76 | Định lượng Globulin |
| 77 | Đo hoạt độ GGT (Gama Glutamyl Transferase) |
| 78 | Định lượng GLP-1 |
| 79 | Định lượng Gentamicin |
| 80 | Định lượng Haptoglobulin |
| 81 | Định lượng HBsAg (HBsAg Quantitative) (CMIA / ECLIA) |
| 82 | Đo hoạt độ HBDH (Hydroxy butyrat dehydrogenase) |
| 83 | Định lượng HbA1c |
| 84 | Định lượng HDL-C (High density lipoprotein Cholesterol) |
| 85 | Định lượng HE4 |
| 86 | Định lượng Homocystein |
| 87 | Định lượng IL-1 α (Interleukin 1 α) |
| 88 | Định lượng IL -1 β (Interleukin 1 β) |
| 89 | Định lượng IL-6 (Interleukin 6) |
| 90 | Định lượng IL-8 (Interleukin 8) |
| 91 | Định lượng IL-10 (Interleukin 10) |
| 92 | Định lượng IgE (bằng phương pháp ELISA) |
| 93 | Định lượng IgE (Immunoglobuline E) |
| 94 | Định lượng IgA (Immunoglobuline A) |
| 95 | Định lượng IgG (Immunoglobuline G) |
| 96 | Định lượng IgM (Immunoglobuline M) |
| 97 | Định lượng IGFBP-3 (Insulin like growth factor binding protein 3) |
| 98 | Định lượng Insulin |
| 99 | Điện di Isozym – LDH |
| 100 | Định lượng IMA (Ischemia Modified Albumin) |
| 101 | Định lượng Kappa |
| 102 | Định lượng Kappa tự do (Free kappa) |
| 103 | Xét nghiệm Khí máu |
| 104 | Định lượng Lactat (Acid Lactic) |
| 105 | Định lượng Lambda |
| 106 | Định lượng Lambda tự do (Free Lambda) |
| 107 | Định lượng Leptin human |
| 108 | Điện di LDL/HDL cholesterol |
| 109 | Đo hoạt độ Lipase |
| 110 | Định lượng LH (Luteinizing hormone) |
| 111 | Đo hoạt độ LDH (Lactat dehydrogenase) |
| 112 | Định lượng LDL - C (Low density lipoprotein Cholesterol) |

| | |
|-----|--|
| 113 | Điện di Lipoprotein |
| 114 | Định lượng Lp-PLA2 (Lipoprotein Associated Phospholipase A2) |
| 115 | Định lượng Malondialdehyd (MDA) |
| 116 | Đo hoạt độ MPO |
| 117 | Định lượng Myoglobin |
| 118 | Định lượng Mg |
| 119 | Định lượng N-MID Osteocalcin |
| 120 | Định lượng NSE (Neuron Specific Enolase) |
| 121 | Định lượng NT-proBNP |
| 122 | Đo hoạt độ P-Amylase |
| 123 | Định lượng PAPP-A |
| 124 | Định lượng Pepsinogen I |
| 125 | Định lượng Pepsinogen II |
| 126 | Định lượng Phenobarbital |
| 127 | Định lượng Phenytoin |
| 128 | Định lượng Phospho |
| 129 | Định lượng Pre-albumin |
| 130 | Định tính Pro-calcitonin |
| 131 | Định lượng Prolactin |
| 132 | Điện di protein |
| 133 | Định lượng Protein toàn phần |
| 134 | Định lượng Progesteron |
| 135 | Định lượng Procainnamid |
| 136 | Định lượng protein S100 |
| 137 | Định lượng Pro-GRP (Pro- Gastrin-releasing peptide) |
| 138 | Định lượng PSA tự do (Free prostate-specific antigen) |
| 139 | Định lượng PSA toàn phần (Total prostate-specific antigen) |
| 140 | Định lượng PTH (Parathyroid hormon) |
| 141 | Định lượng Renin activity |
| 142 | Định lượng RF (Reumatoid factor) |
| 143 | Định lượng Sắt |
| 144 | Định lượng SCC (squamous cell carcinoma antigen) |
| 145 | Định lượng SHBG (Sex hormon binding globulin) |
| 146 | Định lượng Sperm Antibody |
| 147 | Định lượng T ₃ (Tri iodothyronine) |
| 148 | Định lượng T ₄ (Thyroxine) |
| 149 | Định lượng s TfR (solube transferin receptor) |
| 150 | Định lượng Tacrolimus |
| 151 | Định lượng Testosterol |
| 152 | Định lượng TGF β1(Transforming Growth Factor Beta 1) |

| | |
|---------------------|--|
| 153 | Định lượng TGF β 2(Transforming Growth Factor Beta 2) |
| 154 | Định lượng Tg (Thyroglobulin) |
| 155 | Định lượng Theophylline |
| 156 | Định lượng TRAb (TSH Receptor Antibodies) |
| 157 | Định lượng Transferin |
| 158 | Định lượng Triglycerid |
| 159 | Định lượng Troponin T |
| 160 | Định lượng Troponin T hs |
| 161 | Định lượng Troponin I |
| 162 | Định lượng TSH (Thyroid Stimulating hormone) |
| 163 | Định lượng Tobramycin |
| 164 | Định lượng Total p1NP |
| 165 | Định lượng T-uptake |
| 166 | Định lượng Urê |
| 167 | Định lượng Valproic acid |
| 168 | Định lượng Vancomycin |
| 169 | Định lượng Vitamin B12 |
| 170 | Định lượng PLGF (Placental Growth Factor- yếu tố tân tạo mạch máu) |
| 171 | Định lượng sFlt-1 (yếu tố kháng tân tạo mạch máu) |
| B. NƯỚC TIỂU | |
| 172 | Định lượng các chất điện giải |
| 173 | Định tính Amphetamin |
| 174 | Định lượng Amphetamin |
| 175 | Đo hoạt độ Amylase |
| 176 | Định lượng axit uric |
| 177 | Định lượng Barbiturates |
| 178 | Định lượng Benzodiazepin |
| 179 | Định tính β HCG |
| 180 | Định lượng Canxi |
| 181 | Định lượng Catecholamin |
| 182 | Định lượng Cocain |
| 183 | Định lượng Cortisol |
| 184 | Định lượng Creatinin |
| 185 | Định lượng dưỡng chấp |
| 186 | Định tính dưỡng chấp |
| 187 | Định lượng Glucose |
| 188 | Định tính Marijuana |
| 189 | Định lượng MAU |
| 190 | Định lượng Mathadon |

| | |
|---|---|
| 191 | Định lượng NGAL |
| 192 | Định lượng opiat |
| 193 | Định tính Morphin |
| 194 | Định lượng Phospho |
| 195 | Định tính phospho hữu cơ |
| 196 | Định tính Porphyrin |
| 197 | Điện di protein |
| 198 | Định lượng Protein |
| 199 | Định tính Protein Bence –jones |
| 200 | Định tính Rotundin |
| 201 | Định lượng THC (Canabionids) |
| 202 | Định lượng Ure |
| 203 | Tổng phân tích nước tiểu (bằng máy tự động) |
| C. DỊCH NÃO TUỖ | |
| 204 | Định lượng Clo |
| 205 | Định lượng Glucose |
| 206 | Phản ứng Pandy |
| 207 | Định lượng Protein |
| D. THỦY DỊCH MẮT | |
| 208 | Định lượng Albumin |
| 209 | Định lượng Globulin |
| E. DỊCH CHỌC DÒ (Dịch màng bụng, màng phổi, màng tim...) | |
| 210 | Đo hoạt độ Amylase |
| 211 | Định lượng Bilirubin toàn phần |
| 212 | Định lượng Cholesterol toàn phần |
| 213 | Định lượng Creatinin |
| 214 | Định lượng Glucose |
| 215 | Đo hoạt độ LDH |
| 216 | Định lượng Protein toàn phần |
| 217 | Phản ứng Rivalta |
| 218 | Định lượng Triglycerid |
| 219 | Đo tỷ trọng dịch chọc dò |
| 220 | Định lượng Ure |

(Tổng số 220 quy trình kỹ thuật)

**KT. BỘ TRƯỞNG
THỦ TRƯỞNG**

Nguyễn Thị Xuyên

MỤC LỤC

A. MÁU

| | | |
|-----|---|-----|
| 1. | Đo hoạt độ ACP (Phosphatase Acid) | 9 |
| 2. | Định lượng ACTH | 12 |
| 3. | Định lượng Acid Uric | 17 |
| 4. | Định lượng ADH (Anti Diuretic Hormone) | 20 |
| 5. | Định lượng Adiponectin | 24 |
| 6. | Định lượng Aldosteron | 29 |
| 7. | Định lượng Albumin | 36 |
| 8. | Định lượng Alpha1 Antitrypsin | 39 |
| 9. | Đo hoạt độ ALP (Alkalin Phosphatase) | 42 |
| 10. | Đo hoạt độ Amylase | 45 |
| 11. | Định lượng Amoniac (NH ₃) | 48 |
| 12. | Định lượng AMH (Anti- Mullerian Hormone) | 51 |
| 13. | Định lượng Anti CCP | 57 |
| 14. | Định lượng Anti-Tg (Antibody- Thyroglobulin) | 60 |
| 15. | Định lượng Anti - TPO (Anti- thyroid Peroxidase antibodies) | 63 |
| 16. | Định lượng Apo A1 (Apolipoprotein A1) | 66 |
| 17. | Định lượng Apo B (Apolipoprotein B) | 69 |
| 18. | Định lượng AFP (Alpha Fetoproteine) | 72 |
| 19. | Đo hoạt độ ALT (GPT) | 75 |
| 20. | Đo hoạt độ AST (GOT) | 79 |
| 21. | Định lượng α 1 Acid Glycoprotein | 83 |
| 22. | Định lượng β 2 microglobulin | 86 |
| 23. | Định lượng Beta Crosslap | 89 |
| 24. | Định lượng β hCG (Beta human Chorionic gonadotropins) | 94 |
| 25. | Định lượng Bilirubin trực tiếp | 97 |
| 26. | Định lượng Bilirubin gián tiếp | 100 |

| | | |
|-----|--|-----|
| 27. | Định lượng Bilirubin toàn phần | 102 |
| 28. | Định lượng BNP (B- Type Natriuretic Peptide) | 105 |
| 29. | Định lượng Calci toàn phần | 109 |
| 30. | Định lượng Calci ion hoá | 112 |
| 31. | Định lượng canci ion hóa bằng điện cực chọn lọc | 114 |
| 32. | Định lượng CA 125 (cancer antigen 125) | 116 |
| 33. | Định lượng CA 19 - 9 (carbohydrate antigen 19-9) | 119 |
| 34. | Định lượng CA 15 - 3 (cancer antigen 15- 3) | 122 |
| 35. | Định lượng CA 72 - 4 (cancer antigen 72- 4) | 125 |
| 36. | Định lượng Calcitonin | 128 |
| 37. | Định lượng Carbamazepin | 132 |
| 38. | Định lượng Ceruloplasmin | 135 |
| 39. | Định lượng CEA (carcino embryonic antigen) | 138 |
| 40. | Đo hoạt độ Cholinesterase (ChE) | 141 |
| 41. | Định lượng Cholesterol toàn phần | 145 |
| 42. | Đo hoạt độ CK (Creatine kinase) | 148 |
| 43. | Đo hoạt độ CK-MB (Isozym MB of Creatine kinase) | 152 |
| 44. | Định lượng CK-MB mass | 155 |
| 45. | Định lượng C-Peptid | 159 |
| 46. | Định lượng Cortisol | 163 |
| 47. | Định lượng Cystatine C | 168 |
| 48. | Định lượng bổ thể C3 | 172 |
| 49. | Định lượng bổ thể C4 | 175 |
| 50. | Định lượng CRP hs (C-reactive protein high sesitivity) | 178 |
| 51. | Định lượng Creatinin | 181 |
| 52. | Định lượng Cyfra 21- 1 | 184 |
| 53. | Định lượng cyclosporin | 187 |
| 54. | Định lượng D-Dimer | 192 |
| 55. | Định lượng 25OH Vitamin D (D3) | 196 |
| 56. | Định lượng Digoxin | 200 |

| | | |
|-----|--|-----|
| 57. | Định lượng Digitoxin | 203 |
| 58. | Định lượng các chất điện giải (Na, K, Cl) | 205 |
| 59. | Định lượng FABD (Fatty acid binding protein) | 208 |
| 60. | Định lượng Ethanol (cồn) | 213 |
| 61. | Định lượng Estradiol | 216 |
| 62. | Định lượng E3 không liên hợp (Unconjugated Estriol) | 219 |
| 63. | Định lượng Ferritin | 224 |
| 64. | Định lượng Fructosamin | 227 |
| 65. | Định lượng FSH (Follicular stimulating hormone) | 230 |
| 66. | Định lượng free β HCG (Free Beta Human chorionic gonadotropin) | 233 |
| 67. | Định lượng Folate | 237 |
| 68. | Định lượng FT ₃ (Free Triiodothyronine) | 241 |
| 69. | Định lượng FT ₄ (Free thyroxine) | 244 |
| 70. | Định lượng Galectin 3 | 247 |
| 71. | Định lượng Gastrin | 250 |
| 72. | Đo hoạt độ G6PD (Glucose -6 phosphat dehydrogenase) | 255 |
| 73. | Định lượng GH (Growth Hormone) | 258 |
| 74. | Đo hoạt độ GLDH (Glutamat dehydrogenase) | 264 |
| 75. | Định lượng Glucose | 266 |
| 76. | Định lượng Globulin | 269 |
| 77. | Đo hoạt độ GGT (Gama Glutamyl Transferase) | 271 |
| 78. | Định lượng GLP-1 | 275 |
| 79. | Định lượng Gentamicin | 280 |
| 80. | Định lượng Haptoglobin | 283 |
| 81. | Định lượng HBsAg (HBsAg Quantitative) (CMIA / ECLIA) | 286 |
| 82. | Đo hoạt độ HBDH (Hydroxy butyrat dehydrogenase) | 290 |
| 83. | Định lượng HbA1c | 292 |
| 84. | Định lượng HDL-C (High density lipoprotein Cholesterol) | 296 |
| 85. | Định lượng HE4 | 299 |

| | | |
|------|--|-----|
| 86. | Định lượng Homocystein | 303 |
| 87. | Định lượng IL-1 α (Interleukin 1 α) | 306 |
| 88. | Định lượng IL -1 β (Interleukin 1 β) | 309 |
| 89. | Định lượng IL-6 (Interleukin 6) | 312 |
| 90. | Định lượng IL-8 (Interleukin 8) | 316 |
| 91. | Định lượng IL-10 (Interleukin 10) | 319 |
| 92. | Định lượng IgE (bằng phương pháp ELISA) | 322 |
| 93. | Định lượng IgE (Immunoglobuline E) | 326 |
| 94. | Định lượng IgA (Immunoglobuline A) | 329 |
| 95. | Định lượng IgG (Immunoglobuline G) | 332 |
| 96. | Định lượng IgM (Immunoglobuline M) | 335 |
| 97. | Định lượng IGFBP-3 (Insulin like growth factor binding protein 3) | 338 |
| 98. | Định lượng Insulin | 344 |
| 99. | Điện di Isozym – LDH | 348 |
| 100. | Định lượng IMA (Ischemia Modified Albumin) | 353 |
| 101. | Định lượng Kappa | 358 |
| 102. | Định lượng Kappa tự do (Free kappa) | 361 |
| 103. | Xét nghiệm Khí máu | 365 |
| 104. | Định lượng Lactat (Acid Lactic) | 369 |
| 105. | Định lượng Lambda | 372 |
| 106. | Định lượng Lambda tự do (Free Lambda) | 375 |
| 107. | Định lượng Leptin human | 379 |
| 108. | Điện di LDL/HDL cholesterol | 383 |
| 109. | Đo hoạt độ Lipase | 388 |
| 110. | Định lượng LH (Luteinizing hormone) | 391 |
| 111. | Đo hoạt độ LDH (Lactat dehydrogenase) | 394 |
| 112. | Định lượng LDL - C (Low density lipoprotein Cholesterol) | 397 |
| 113. | Điện di Lipoprotein | 400 |
| 114. | Định lượng Lp-PLA2 (Lipoprotein Associated Phospholipase | 403 |

A2)

| | |
|---|-----|
| 115. Định lượng Malondialdehyd (MDA) | 408 |
| 116. Đo hoạt độ MPO | 412 |
| 117. Định lượng Myoglobin | 415 |
| 118. Định lượng Mg | 418 |
| 119. Định lượng N-MID Osteocalcin | 422 |
| 120. Định lượng NSE (Neuron Specific Enolase) | 426 |
| 121. Định lượng NT-proBNP | 429 |
| 122. Đo hoạt độ P-Amylase | 434 |
| 123. Định lượng PAPP-A | 437 |
| 124. Định lượng Pepsinogen I | 442 |
| 125. Định lượng Pepsinogen II | 447 |
| 126. Định lượng Phenobarbital | 452 |
| 127. Định lượng Phenytoin | 455 |
| 128. Định lượng Phospho | 458 |
| 129. Định lượng Pre-albumin | 461 |
| 130. Định tính Pro-calcitonin | 465 |
| 131. Định lượng Prolactin | 468 |
| 132. Điện di protein | 471 |
| 133. Định lượng Protein toàn phần | 474 |
| 134. Định lượng Progesteron | 478 |
| 135. Định lượng Procainnamid | 481 |
| 136. Định lượng protein S100 | 484 |
| 137. Định lượng Pro-GRP (Pro- Gastrin-releasing peptide) | 487 |
| 138. Định lượng PSA tự do (Free prostate-specific antigen) | 492 |
| 139. Định lượng PSA toàn phần (Total prostate-specific antigen) | 495 |
| 140. Định lượng PTH (Parathyroid hormon) | 498 |
| 141. Định lượng Renin activity | 501 |
| 142. Định lượng RF (Reumatoid factor) | 506 |
| 143. Định lượng Sắt | 509 |

| | |
|---|-----|
| 144. Định lượng SCC (squamous cell carcinoma antigen) | 512 |
| 145. Định lượng SHBG (Sex hormon binding globulin) | 517 |
| 146. Định lượng Sperm Antibody | 521 |
| 147. Định lượng T ₃ (Tri iodothyronine) | 525 |
| 148. Định lượng T ₄ (Thyroxine) | 528 |
| 149. Định lượng s TfR (solube transferin receptor) | 531 |
| 150. Định lượng Tacrolimus | 534 |
| 151. Định lượng Testosterol | 538 |
| 152. Định lượng TGF β1(Transforming Growth Factor Beta 1) | 541 |
| 153. Định lượng TGF β2(Transforming Growth Factor Beta 2) | 546 |
| 154. Định lượng Tg (Thyroglobulin) | 551 |
| 155. Định lượng Theophylline | 554 |
| 156. Định lượng TRAb (TSH Receptor Antibodies) | 557 |
| 157. Định lượng Transferin | 562 |
| 158. Định lượng Triglycerid | 565 |
| 159. Định lượng Troponin T | 569 |
| 160. Định lượng Troponin T hs | 572 |
| 161. Định lượng Troponin I | 576 |
| 162. Định lượng TSH (Thyroid Stimulating hormone) | 579 |
| 163. Định lượng Tobramycin | 582 |
| 164. Định lượng Total p1NP | 585 |
| 165. Định lượng T-uptake | 589 |
| 166. Định lượng Urê | 592 |
| 167. Định lượng Valproic acid | 595 |
| 168. Định lượng Vancomycin | 598 |
| 169. Định lượng Vitamin B12 | 601 |
| 170. Định lượng PLGF (Placental Growth Factor- yếu tố tân tạo mạch máu) | 605 |
| 171. Định lượng sFlt-1 (yếu tố kháng tân tạo mạch máu) | 610 |

B NƯỚC TIỂU

| | |
|-------------------------------------|-----|
| 172. Định lượng các chất điện giải | 614 |
| 173. Định tính Amphetamin | 618 |
| 174. Định lượng Amphetamin | 621 |
| 175. Đo hoạt độ Amylase | 624 |
| 176. Định lượng axit uric | 626 |
| 177. Định lượng Barbiturates | 630 |
| 178. Định lượng Benzodiazepin | 633 |
| 179. Định tính β HCG | 636 |
| 180. Định lượng Canxi | 638 |
| 181. Định lượng Catecholamin | 641 |
| 182. Định lượng Cocain | 644 |
| 183. Định lượng Cortisol | 647 |
| 184. Định lượng Creatinin | 650 |
| 185. Định lượng dưỡng chấp | 653 |
| 186. Định tính dưỡng chấp | 656 |
| 187. Định lượng Glucose | 659 |
| 188. Định tính Marijuana | 661 |
| 189. Định lượng MAU | 664 |
| 190. Định lượng Mathadon | 667 |
| 191. Định lượng NGAL | 670 |
| 192. Định lượng opiat | 674 |
| 193. Định tính Morphin | 676 |
| 194. Định lượng Phospho | 679 |
| 195. Định tính phospho hữu cơ | 682 |
| 196. Định tính Porphyrin | 687 |
| 197. Điện di protein | 690 |
| 198. Định lượng Protein | 693 |
| 199. Định tính Protein Bence –jones | 696 |
| 200. Định tính Rotundin | 698 |
| 201. Định lượng THC (Canabionids) | 703 |

| | |
|---|-----|
| 202. Định lượng Ure | 706 |
| 203. Tổng phân tích nước tiểu (bằng máy tự động) | 709 |
| C. DỊCH NÃO TUỖ | |
| 204. Định lượng Clo | 713 |
| 205. Định lượng Glucose | 716 |
| 206. Phản ứng Pandy | 719 |
| 207. Định lượng Protein | 721 |
| D. THỦY DỊCH MẮT | |
| 208. Định lượng Albumin | 724 |
| 209. Định lượng Globulin | 726 |
| E. DỊCH CHỌC DÒ (Dịch màng bụng, màng phổi, màng tim...) | |
| 210. Đo hoạt độ Amylase | 728 |
| 211. Định lượng Bilirubin toàn phần | 731 |
| 212. Định lượng Cholesterol toàn phần | 733 |
| 213. Định lượng Creatinin | 736 |
| 214. Định lượng Glucose | 740 |
| 215. Đo hoạt độ LDH | 743 |
| 216. Định lượng Protein toàn phần | 745 |
| 217. Phản ứng Rivalta | 748 |
| 218. Định lượng Triglycerid | 751 |
| 219. Đo tỷ trọng dịch chọc dò | 754 |
| 220. Định lượng Ure | 756 |

A. MÁU

1. ĐO HOẠT ĐỘ ACP

(Phosphatase acid)

I. NGUYÊN LÝ

ACP xúc tác phản ứng thủy phân 1-naphthyl phosphat ở pH 4.5- 6 giải phóng phosphate vô cơ và 1-naphtanol. 1-naphtanol phản ứng với FRTR tạo sản phẩm màu azo. Hoạt độ enzym được tính toán bằng sự thay đổi mật độ quang tại bước sóng...

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên của phòng xét nghiệm có nhiệm vụ nhận và kiểm tra chất lượng của mẫu bệnh phẩm bằng cách đối chiếu với các tiêu chuẩn loại bỏ và thực hiện phân tích theo phương pháp đã được xác định.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy hóa sinh tự động AU2700
- Máy ly tâm
- Hóa chất làm xét nghiệm ACP (hãng Olympus)
- Huyết thanh kiểm tra mức 1 (QC mức bình thường)
- Huyết thanh kiểm tra mức 2 (QC mức bệnh lý)
- Chuẩn
- Chất ổn định ACP
- Nước cất

3. Người bệnh

Không thăm khám tuyến tiền liệt trước khi lấy mẫu máu vì có thể làm tăng hoạt độ ACP.

4. Phiếu xét nghiệm

Ghi đầy đủ thông tin cần thiết: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Huyết thanh, không dùng huyết tương.

2. Tiễn hành kỹ thuật

- Ly tâm ống máu trong 5 phút với vận tốc 3000 vòng/ phút.
- Tách huyết thanh và thêm một giọt chất ổn định ACP
- Đặt ống bệnh phẩm vào vị trí trên khay chứa mẫu.
- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:

Hàng ngày: Chạy 2 mức kiểm QC tra chất lượng hàng ngày vào buổi sáng và ít nhất sau mỗi 8 tiếng. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức QC nằm trong khoảng cho phép.

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 chuẩn máy XN.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

Hoạt độ ACP: Người lớn 4,8- 13,5 U/L ở 37°C

2. Ý nghĩa lâm sàng

ACP tăng cao là chỉ điểm cho carcinoma tiền liệt tuyến, bệnh xương hoặc bệnh của hệ võng nội mô.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

- Vì ACP không bền ở pH trên 7, ngay sau khi lấy máu phải tách huyết thanh, cho thêm 20 µl/ ml huyết thanh dung dịch acid acetic 10% hoặc sodium bisulfat.
- Mẫu không acid hoá hoạt độ giảm 20% trong vòng 3 giờ. Mẫu acid hoá ổn định 24 giờ ở nhiệt độ phòng và ổn định 7 ngày khi bảo quản tại 2 đến 8°C

2. ĐỊNH LƯỢNG ACTH MÁU (Adrenocorticotropic hormone)

I. NGUYÊN LÝ

ACTH hoặc corticotropin là một hormone peptide gồm 39 amino acid, được sản xuất bởi thùy trước tuyến yên. ACTH kích thích sự hình thành và sự bài tiết glucocorticoid (đặc biệt là cortisol) của vùng vỏ của tuyến thượng thận.

ACTH được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang (ECLIA). Tổng thời gian phân tích một mẫu là 18 phút.

+ Giai đoạn ủ đầu tiên: Tạo thành phức hợp “sandwich” gồm 3 thành phần:

Mẫu bệnh phẩm (huyết thanh, huyết tương) kẹp giữa kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng ACTH gắn biotin và một kháng thể đơn dòng đặc hiệu, kháng ACTH gắn với ruthenium. Ba thành phần tạo thành một phức hợp miễn dịch kiểu bánh sandwich

+ Giai đoạn ủ thứ hai: Sau khi cho thêm các vi hạt được bao phủ bởi Streptavidin. Phức hợp được gắn kết vào pha rắn do sự tương tác giữa biotin và streptavidin.

+ Phức hợp phản ứng được đưa vào buồng đo. Tại đây các vi hạt (microparticles) được giữ lại bằng từ tính trên bề mặt điện cực. Những chất thừa được rửa đi bằng procell. Dùng một dòng điện một chiều tác động vào điện cực nhằm kích thích phát quang và cường độ tín hiệu ánh sáng phát ra có thể đo được bằng bộ phận nhân quang.

+ Kết quả được tính toán dựa vào đường cong chuẩn thu được bằng cách chuẩn 2 điểm và đường cong gốc được cung cấp từ nhà sản xuất. Nồng độ chất cần định lượng tỷ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 Cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 Kỹ thuật viên

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: Elecsys 1010, Elecsys 2010, Modular analytics e 170, cobas e 411, cobas e 601 và một số máy khác

- Máy ly tâm

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

- Pipet các loại
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

- Lọ 1 (M) – nắp trong: Streptavidin-coated microparticles, thể tích 6,5 mL: (có chứa Streptavidin-coated microparticles 0,72 mg/mL) và chất bảo quản.
- Lọ 2 (R1) - nắp màu xám: Anti-ACTH-Ab~biotin, thể tích 8 mL (có chứa Biotinylated monoclonal anti-ACTH antibody (mouse) 0.3 mg/L); dung dịch đệm MES (2-morpholino-ethane sulfonic acid) 50 mmol/L, pH 6,2 và chất bảo quản.
- Lọ 3 (R2)- nắp màu đen: Anti-ACTH-Ab~Ru(bpy), thể tích 8 mL (có chứa Monoclonal anti-ACTH antibody (mouse) gắn với phức hợp ruthenium 0.3 mg/L)
- Dung dịch đệm MES (2-morpholino-ethane sulfonic acid) 50 mmol/L, pH 6.2 và chất bảo quản.

Thuốc thử được bảo quản ở nhiệt độ 2- 8⁰C, có thể ổn định đến thời hạn ghi trên hộp. Thuốc thử sau khi mở nắp bảo quản được 12 tuần ở 2-8⁰C. Nếu để trên máy (không tắt máy) có thể được 4 tuần.

- + Procell; Clean cell
- + Dung dịch chuẩn
- + Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- ống nghiệm
- Găng tay
- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh về mục đích của xét nghiệm

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng

4. Phiếu xét nghiệm

Có phiếu xét nghiệm ghi rõ yêu cầu xét nghiệm. Trên phiếu cần ghi rõ thời gian lấy mẫu trong ngày trên ống (mẫu 1, mẫu 2).

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu máu được lấy vào ống chống đông EDTA. Mẫu được để vào khay đá, chuyển xuống PXN ngay. Khi tách huyết tương sử dụng ly tâm lạnh. Mẫu cần được phân tích ngay. Có thể ổn định 2h ở 22⁰C. Nếu không phải lưu giữ ở nhiệt độ -20⁰C (chỉ được để đông 1 lần)

Đảm bảo mẫu người bệnh, dung dịch chuẩn và QC phải ở nhiệt độ từ 22-25⁰C trước khi phân tích

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và máy sẽ tự động phân tích.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số bình thường: Buổi sáng < 18 pmol/L (< 80 pg/mL)

Buổi chiều: < 11 pmol/L (<50 pg/mL)

Hệ số chuyển đổi đơn vị:

$$\text{pg/mL} \times 0.2202 = \text{pmol/L}$$

$$\text{pmol/L} \times 4.541 = \text{pg/mL}$$

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả có thể bị ảnh hưởng khi nồng độ bilirubin máu > 428 mmol/L (>25 mg / dL); mẫu bị huyết tán nhưng Hb >0,25 mmol/L (>0,4 g/dL), Triglycerid máu >1500 mg / dL, và biotin > 246 nmol/L (> 60 ng/mL); yếu tố dạng thấp (RF> 400 IU/mL).
- Người bệnh đang điều trị liều cao biotin (> 5 mg/ngày), nên lấy mẫu máu cách xa thời gian uống thuốc lần cuối cùng \geq 8giờ.

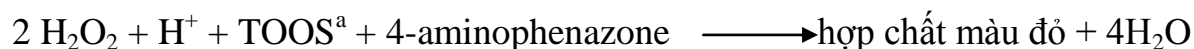
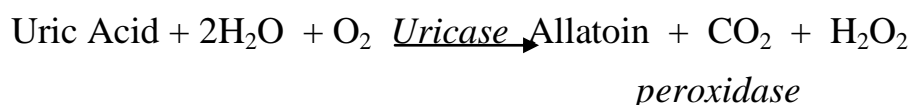
| Các yếu tố | Hậu quả | Xử trí |
|---|-------------------------|---|
| Người bệnh bị sang chấn (stress), hạ glucose máu, phụ nữ đang mang thai | Có thể làm tăng kết quả | Chú ý khi nhận định kết quả |
| Các thuốc đang sử dụng: aminoglutethimide, amphetamines, estrogen, | Có thể làm tăng kết quả | Có thể ngừng thuốc trước khi có chỉ định xét nghiệm |

| | | |
|---|----------------------------------|---|
| ethanol, insulin | | |
| Thuốc thử, dung dịch chuẩn và dung dịch QC, bảo quản ở nhiệt độ không đúng quy định và bị bọt | ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm | Bảo quản thuốc thử, dung dịch chuẩn, dung dịch QC ở đúng nhiệt độ quy định, Tránh gây bọt |

3. ĐỊNH LƯỢNG ACID URIC

I. NGUYÊN LÝ

Acid Uric là sản phẩm chuyển hóa cuối cùng của base có nitơ nhân purin
Acid Uric máu được định lượng theo phương pháp enzyme so màu



Sản phẩm màu được đo ở bước sóng 546nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: buffer, TOOS ...

R 2: Uricase, POD, 4-AAP...

Bảo quản ở 2-8⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, nước muối sinh lý
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, côn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích 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 người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 5 ngày, ở - 20⁰C được 6 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành XN.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường:

- Nam: 202 – 416 $\mu\text{mol/l}$
- Nữ: 143 – 399 $\mu\text{mol/l}$

- Acid uric máu tăng trong:

- Bệnh Goutte
- Suy thận
- Nhiễm độc chì, thủy ngân

- Acid uric máu giảm trong:

- Bệnh Willson
- Con liệt chu kỳ
- Xanthin niệu

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|---|------------------------------|--|
| Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng EDTA | Làm giảm kết quả khoảng 7% | Không sử dụng loại chất chống đông này |
| Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc | Kết quả ảnh hưởng không rõ | |
| Nồng độ > dải đo (11,9 – 1487 $\mu\text{mol/L}$) | Sai lệch kết quả. Rất ít gặp | Pha loãng bệnh phẩm |

4. ĐỊNH LƯỢNG ADH

(Anti Diuretic Hormone)

I. NGUYÊN LÝ

- Định lượng ADH trong huyết tương và huyết thanh bằng phương pháp miễn dịch enzyme (ELISA)
- Khi thực hiện kit, các giếng được tráng trước với một kháng thể đặc biệt tiết ra từ hormone ADH. Sau đó chất chuẩn hay mẫu bệnh phẩm được đưa vào cùng với Biotin-conjugated và HRP cho mỗi giếng rồi ủ. Tiếp đó chất thử TMB thêm vào. Chỉ những giếng có chứa ADH, biotin-conjugated kháng thể và enzyme-conjugated Avidin sẽ làm đổi màu. Nồng độ của ADH được xác định trên đồ thị vẽ từ nồng độ mẫu đo OD với nồng độ chuẩn.
- Nồng độ chuẩn: 80 pg/ml, 40 pg/ml, 20 pg/ml, 10 pg/ml, 5pg/ml, 2.5 pg/ml, 1.25 pg/ml.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

2. Phương tiện, hóa chất

2.1 Vật liệu tự chuẩn bị

- Micropipettes (10-100 μ L/100-1000 μ L)
- Giếng 96 lỗ
- Máy Elisa
- Máy đo quang
- Máy ủ

2.2 Hóa chất và thuốc thử trong bộ Kit của nhà cung cấp

- Wash Buffer (nồng độ 25X)
- Chất chuẩn
- Mẫu pha loãng
- Biotin-antibody pha loãng
- HRP-avidin pha loãng
- Biotin-antibody
- HRP-avidin
- Stop Solution
- Thuốc thử TMB

Điều kiện bảo quản : 2-8°C

3. Người bệnh

Người bệnh cần được tư vấn về mục đích làm xét nghiệm.

- Đề góp phần chẩn đoán một số tình trạng bệnh lý có thể gây bài xuất bất thường ADH (Ví dụ: hội chứng tiết ADH không thích hợp [SIADH]).
- Đề góp phần chẩn đoán một số tình trạng bệnh lý gây mất bài xuất ADH hay gây mất đáp ứng thận đối với tác dụng của ADH (Ví dụ: đái nhạt nguồn gốc trung ương và đái nhạt nguồn gốc thận).
- Đề chẩn đoán và chẩn đoán phân biệt giữa đái tháo nhạt với tình trạng đái nhiều do căn nguyên thần kinh (psychogenic polyuria).
- Đề chẩn đoán phân biệt các trường hợp giảm natri máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Xét nghiệm được tiến hành trên huyết tương

- Yêu cầu người bệnh nhịn ăn 10-12 giờ trước khi lấy máu xét nghiệm. Người bệnh được yêu cầu tránh các hoạt động thể lực và bị stress trong thời gian xét nghiệm. Lấy máu khi người bệnh ở tư thế ngồi.
- Mẫu bệnh phẩm sau khi lấy cần được bảo quản trong túi đá lạnh và được chuyển ngay tới phòng xét nghiệm (không được để trong điều kiện nhiệt độ phòng).

2. Tiến hành kỹ thuật ADH ELISA

- Thêm 100 µl chất chuẩn, Blank, mẫu bệnh phẩm vào mỗi giếng. Đậy nắp và ủ trong 2 giờ ở 37°C
- Hút bỏ chất lỏng trên bề mặt giếng. Chú ý: không rửa
- Thêm 100 µl Biotin-antibody, ủ 1 giờ ở 37°C
- Hút hết cơ chất rồi rửa với 200µl Wash Buffer
- Lặp lại quy trình 3 lần
- Thêm 100 µl HRP-avidin vào mỗi giếng, ủ 1 giờ ở 37°C
- Rửa 5 lần với 200µl Wash Buffer
- Thêm 90µl thuốc thử TMB vào mỗi giếng, ủ 10-30 phút ở 37°C
- Thêm 50µl dung dịch Stop Solution để ngừng phản ứng khi 4 giếng đầu tiên chứa nồng độ chất chuẩn cao nhất đổi sang màu xanh. Nếu sự đổi màu không xuất hiện đồng bộ, phải chắc là các các trong mỗi giếng được trộn đều.
- Đọc độ hấp thụ tại bước sóng 450nm trong 10 phút.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Sử dụng đường cong chuẩn để tính toán nồng độ ADH trong mẫu:

- Tạo một đường cong chuẩn bằng cách xử lý phân tích dữ liệu dùng phần mềm máy tính thích hợp thống kê 4 tham số.

- Trục y: nồng độ mẫu bệnh phẩm, trục x: nồng độ chất chuẩn.
- Trung bình kết quả lặp lại của mỗi lần đo chất chuẩn, control, sample và trừ cho trung bình mật độ quang của standard zero.

Kết luận: kết quả được biện luận để đưa ra kết luận dựa trên các trị số tham chiếu.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nếu giá trị nồng độ mẫu bệnh phẩm cao hơn nồng độ chất chuẩn ở mức cao nhất. Pha loãng mẫu với chất Standard Diluent và lặp lại quy trình.
- Khi sử dụng máy rửa tự động phải cộng thêm khoảng 30 giây sau khi thêm đệm rửa và lắc 180 độ giữa các bước rửa sẽ làm gia tăng sự chính xác.

Để đảm bảo kết quả xác thực, nắp đậy cần phải dính sát trong quá trình

5. ĐỊNH LƯỢNG ADIPONECTIN

Adiponectin là một polypeptid gồm 244 axit amin. Adiponectin chủ yếu được tổng hợp bởi các tế bào mỡ. Mức độ Adiponectin thấp liên quan chặt chẽ với sự đề kháng insulin và hội chứng chuyển hóa, cũng như tăng nguy cơ đái tháo đường type 2 và bệnh tim mạch.

I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng Adiponectin trong nuôi cấy tế bào, huyết thanh và huyết tương người

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên - kháng thể theo phương pháp sandwich: các giếng được phủ kháng thể đặc hiệu cho Adiponectin người. Standard, mẫu và Biotin-kháng thể được thêm vào, Adiponectin trong mẫu kết hợp với kháng thể phủ trên giếng và Biotin-kháng thể mới được thêm vào. Sau khi rửa đi các Biotin-kháng thể không kết hợp, thì HRP- Avidin liên hợp được thêm vào. Tiếp theo, sau khi các giếng được rửa lần hai, cơ chất TMB được thêm vào giếng. Sau đó, dung dịch ngừng phản ứng thêm vào sẽ chuyển dung dịch phản ứng từ màu xanh sang màu vàng, đậm độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ Adiponectin trong mẫu, được đo ở bước sóng 450 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng DRG (Đức) (EIA-4820)
 - + Đĩa phản ứng (96 giếng)
 - + HRP- Avidin liên hợp
 - + Chuẩn: 2 lọ (dạng đông khô)
 - + Cơ chất TMB
 - + Biotin-kháng thể Adiponectin
 - + Dung dịch rửa
 - + Dung dịch pha loãng
 - + Dung dịch ngừng phản ứng

Trong đó: HRP-Avidin là Avidin liên kết với HRP (Horseradish Peroxidase). TMB: 3,3',5,5' tetramethyl-benzidine.

- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp

- + Pipet chính xác
- + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một lần
- + Nước cất
- + Control level 1 và 2.

3. Người bệnh

Người bệnh không cần nhịn đói hay yêu cầu gì.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Sử dụng huyết thanh, huyết tương, dung dịch nổi trong nuôi cấy tế bào

- Huyết tương:

+ Thu thập huyết tương bằng cách sử dụng một phần mười thể tích natri citrat 0,1M như một chất chống đông. Ly tâm mẫu với 3000 vòng trong 10 phút.

+ Pha loãng mẫu huyết tương với dung dịch pha loãng theo tỉ lệ 1:1000. Nên thực hiện pha loãng theo hai bước, ví dụ:

B1: Pha loãng 1:100 (5 mẫu + 495 dung dịch pha loãng)

B2: Pha loãng 1:10 (100 mẫu đã pha loãng + 900 dung dịch pha loãng).

+ Không sử dụng máu đục, máu vỡ hồng cầu.

+ Mẫu chưa pha loãng có thể được lưu trữ ở -20°C hoặc thấp hơn. Chỉ rã đông một lần

- Huyết thanh:

+ Sau khi hình thành cục máu đông, ly tâm mẫu với 3000 vòng trong 10 phút.

+ Pha loãng mẫu huyết thanh với dung dịch pha loãng theo tỉ lệ 1:1000. Nên thực hiện pha loãng theo hai bước như trên.

+ Mẫu chưa pha loãng có thể được lưu trữ ở -20°C hoặc thấp hơn, ổn định được 3 tháng. Chỉ rã đông một lần.

- Dung dịch nổi trong nuôi cấy tế bào
- + Ly tâm với 3000 vòng/ phút, trong 10 phút để loại bỏ các mảnh vụn.
- + Pha loãng dung dịch nổi trong nuôi cấy tế bào với dung dịch pha loãng mẫu theo tỉ lệ 1:10
- (Ví dụ: 10 mẫu + 90 dung dịch pha loãng)
- + Lưu trữ ở -20°C hoặc thấp hơn. Chỉ rã đông một lần.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

2.1.1. Dung dịch rửa:

Hòa 50 ml dung dịch rửa với 950 ml nước cất để được dung dịch 1000 ml.

Sau khi pha, ổn định 3 ngày ở nhiệt độ phòng, 2 tuần ở 8°C

2.1.2. Chuẩn:

- Lọ chuẩn gốc có nồng độ 30 ng/mL
- Pha loãng nhiều lần với dung dịch pha loãng để được S4 - S1 với các nồng độ tương ứng là 15 ng/mL; 5 ng/mL; 1,67 ng/mL; 0,56 ng/mL; 0,185 ng/mL và S0 là dung dịch pha loãng (0 ng/mL)
- Chuẩn thì không ổn định sau khi pha loãng → sử dụng ngay sau khi pha loãng hoặc làm đông nếu không sử dụng trong vòng 1 giờ.

c. Biotin-kháng thể và HRP-Avidin

Vortex đều, nhẹ nhàng trước khi dùng.

2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng 255 phút
- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

- + Hút 50 μl mỗi calibrator/ QC hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- + Ủ 120 phút ở nhiệt độ phòng
- + Rửa các giếng 5 lần với 300 dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 50 μl Biotin - kháng thể vào mỗi giếng
- + Ủ 60 phút ở nhiệt độ phòng

- + Rửa các giếng 5 lần với 300 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 50 μ l HRP-Avidin liên hợp vào mỗi giếng
- + Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng
- + Rửa các giếng 5 lần với 300 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 50 μ l cơ chất TMB vào mỗi giếng.
- + Ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng.
- + Hút 25 μ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng
- + Tiến hành đo với bước sóng 450/630 nm ngay lập tức

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham khảo:

Nam trưởng thành: 8000 – 10000 ng/mL (8 -10 mg/L)

Nữ trưởng thành : 10000 – 12000 ng/mL (10 - 12 mg/L)

- Ý nghĩa lâm sàng: Adiponectin giảm có nguy cơ bị các bệnh sau:

- Bệnh béo phì
- Xơ vữa động mạch
- Bệnh động mạch vành
- Hội chứng chuyển hóa

Bổ sung omega-3, tăng cường chất xơ trong khẩu phần hàng ngày, hoặc tập thể dục điều độ giúp làm tăng nồng độ adiponectin.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống \rightarrow lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Mẫu có kết quả vượt quá 15 ng/mL thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch pha loãng.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

6. ĐỊNH LƯỢNG ALDOSTEROL

Aldosteron là hormon tuyến vỏ thượng thận tăng sự tái hấp thu Natri ở “ống” thận dẫn tới việc bài tiết Kali, điều chỉnh lượng máu tuần hoàn. Sản sinh thừa và bài tiết thường xuyên (mạn) Aldosteron sẽ dẫn tới chứng tăng huyết áp. Đo mức độ Aldosteron trong huyết thanh cùng với rennin huyết thanh có thể được dùng để phân biệt giữa Aldosteronism tiên phát và thứ phát.

I. NGUYÊN LÝ

- Aldosteron được định lượng bằng kỹ thuật ELISA .
- Mẫu bệnh phẩm (huyết thanh) được thêm vào các giếng đã được tráng bằng kháng thể kháng Aldosteron và ủ trong dung dịch đệm 30 phút ở nhiệt độ phòng. Nếu Aldosteron trong mẫu bệnh phẩm, sẽ kết hợp với các kháng thể có trong giếng. Giếng được rửa để loại bỏ mẫu dư và kháng thể kháng Aldosteron gắn peroxidase được thêm vào sẽ tạo phức liên kết enzyme và kháng thể kẹp giữa là phân tử Aldosteron.
- Sau khi ủ ở nhiệt độ phòng 30 phút, các giếng được rửa để loại bỏ các thành phần dư thừa. Cơ chất TMB được thêm vào ủ tiếp dung dịch phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 20 phút để chuyển thành màu xanh da trời. Tiến hành đọc phản ứng ở bước sóng 450 nm.
- Nồng độ Aldosteron tỷ lệ với độ đậm của màu xanh trong giếng

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Người thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất

- Pipettes thể tích 50, 100, 150 và 300 microL
- Đầu pipet dùng 1 lần
- Nước cất hoặc nước khử Ion
- 3.2 N HCL và 3,2 N NaOH (dùng cho xét nghiệm nước tiểu)
- Ống thủy tinh hay Polypropylene (dùng cho xét nghiệm nước tiểu)
- Nước rửa
- Máy lắc đĩa
- Máy đọc đĩa giếng với kính lọc 450nm và OD > 3.0 hoặc cao hơn

2.1. Các chất được cung cấp

- Đĩa chứa Kháng thể kháng-Aldosteron từ thỏ:
 - + Thành phần: 1 đĩa chứa 96 (12x8) giếng trong túi nắp kéo, có chứa chất hút ẩm
 - + Lưu trữ: 2-8C
 - + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì
- Aldosterone-Biotin: Avidin-Horse Radish Peroxidase (HRP) Conjugate Concentrate – X50:

- + Thành phần: Aldosterone-Biotin và Avidin-Horse Radish Peroxidase (HRP) Conjugate Concentrate trong dung dịch đệm gốc protein không chứa thủy ngân
- + Thể tích: 300 microL/lọ
- + Lưu trữ: 2-8C
- + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì
- + Chuẩn bị: Pha loãng Aldosterone-Biotin và Avidin-HRP Concentrate 1:50 trong dung dịch đệm xét nghiệm trước khi dùng. Nếu dùng hết đĩa thì pha 240 microL HRP trong 12 ml dung dịch đệm xét nghiệm. Đổ bỏ phần thừa nếu có

- Aldosteron Chất chuẩn-Có sẵn:

- + Thành phần: 6 lọ chứa Aldosterone trong dung dịch đệm gốc protein không chứa thủy ngân

| Calibrator | Concentration | Volume/Vial |
|-------------------|----------------------|--------------------|
| Calibrator A | 0 pg/ml | 2.0 ml |
| Calibrator B | 20 pg/ml | 0.5 ml |
| Calibrator C | 80 pg/ml | 0.5 ml |
| Calibrator D | 300 pg/ml | 0.5 ml |
| Calibrator E | 800 pg/ml | 0.5 ml |
| Calibrator F | 2000 pg/ml | 0.5 ml |

- + Lưu trữ: 2 – 8C
- + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì. Khi mở ra thì phải dùng trong vòng 14 ngày hoặc lưu trữ đông lạnh. Tránh đông và rã đông nhiều lần
- Chất chứng: Có sẵn:
 - + Thành phần: 02 lọ chứa Aldosterone trong dung dịch đệm gốc protein không chứa thủy ngân. Tham khảo nhãn lọ để biết giới hạn sử dụng
 - + Thể tích: 0.5 mL/lọ
 - + Lưu trữ: 2-8⁰C
 - + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì. Khi mở ra thì phải dùng trong vòng 14 ngày hoặc lưu trữ đông lạnh. Tránh đông và rã đông nhiều lần
- Wash Buffer Concentrate – X10:
 - + Thành phần: 01 chai chứa dung dịch đệm không thủy ngân và chứa chất tẩy non-ionic.
 - + Thể tích: 50 mL/chai
 - + Lưu trữ: 2-8⁰C
 - + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì.
 - + Chuẩn bị: Pha loãng 1:10 trong nước cất hoặc nước khử Ion. Nếu dùng hết đĩa thì pha 50ml trong 450ml nước
- Assay Buffer – Có sẵn:

- + Thành phần: 01 lọ chứa dung dịch đệm gốc protein không thủy ngân.
- + Thể tích: 15 ml/lọ
- + Lưu trữ: 2-8⁰C
- + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì.
- Đệm TMB – Có sẵn:
 - + Thành phần: 01 chai chứa Tetramethylbenzidine và Hydrogen Peroxide trong Non-DMF hoặc DMSO chứa dd đệm.
 - + Thể tích: 16 ml/chai
 - + Lưu trữ: 2-8⁰C
 - + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì.
- Dung dịch ngừng – Có sẵn:
 - + Thành phần: 01 chai chứa 1M Sulfuric Acid.
 - + Thể tích: 6 ml/chai
 - + Lưu trữ: 2-8⁰C
 - + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm:

- Để chẩn đoán tình trạng cường Aldosteron tiên phát hay thứ phát.
- Để đánh giá sản xuất Aldosteron thượng thận.
- Để chẩn đoán phân biệt các rối loạn nước và điện giải.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Xử lý mẫu:
- Huyết thanh: không cần
- Nước tiểu: Thủy phân, Trung hòa và Pha loãng
- Tất cả các chất cần phải đạt nhiệt độ phòng trước khi dùng. Mẫu bệnh, mẫu chứng, mẫu chuẩn phải được xét nghiệm 2 lần. Khi một quy trình bắt đầu thì phải thực hiện các bước hoàn chỉnh, không được ngừng lại.
 - Chuẩn bị dung dịch conjugate và dung dịch rửa
 - Tháo những dải số trên đĩa vi giếng. Dán miệng túi và cắt những phần chưa dùng vào tủ đông
 - Dùng pipet hút 50 µl mỗi mẫu bệnh (huyết thanh hoặc nước tiểu), mẫu chuẩn, mẫu chứng đưa vào giếng tương ứng, làm 2 lần.
 - Dùng pipet hút 100 µl dung dịch conjugate cho vào mỗi giếng (nên dùng pipet loại đa kênh)
 - Ủ trên máy lắc đĩa (200 vòng/phút) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng.

- Rửa giếng 3 lần bằng 300 µl nước rửa đệm đã pha loãng cho mỗi giếng và nắp chặt đĩa lại bằng giấy hút ẩm để bảo đảm đĩa khô
- Dùng pipet hút 150 µl chất nền TMB cho vào mỗi giếng cùng một khoảng thời gian như nhau
- Ủ trên máy lắc đĩa từ 10-15 phút ở nhiệt độ phòng (hoặc cho tới khi Calibrator A đạt màu xanh biển đậm)
- Hút 50 µl dd dùng cho mỗi giếng cùng khoảng thời gian như trong bước 7
- Đọc đĩa trên máy đọc ở 450 nm trong 20 phút sau khi thêm dung dịch ngừng vào
(*Trình tự và thời gian thực hiện xét nghiệm theo bộ kit của công ty DRG International, Inc., Mỹ*)

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Tính toán mật độ quang của mỗi mẫu chuẩn làm 2 lần
- Vẽ đường chuẩn trên giấy “semi-log” với trục Y là mật độ quang và trục X là nồng độ chất chuẩn.
- Tính toán mật độ quang của mẫu
- Đọc giá trị của mẫu huyết thanh trực tiếp từ đường cong chuẩn. Nếu kết quả cao hơn 2000pg/ml thì phải pha loãng chất chuẩn A ở tỉ lệ không quá 8 lần, khi đó giá trị đo được phải nhân với hệ số pha loãng.
- Đọc giá trị của mẫu nước tiểu trực tiếp từ đường cong chuẩn và nhân với hệ số 60 từ. Kế tiếp, nhân với lượng nước tiểu trong vòng 24 giờ thu thập được (lít). Cuối cùng chia với 1000 để đạt được giá trị µg/24 giờ. Nếu kết quả lớn hơn 2000 pg/ml, pha loãng chất chuẩn A nhưng không quá 2 lần, kết quả nhân lại với hệ số pha loãng.
- Nồng độ Aldosteron thay đổi trong các trường hợp:

| Bệnh | Aldosteron huyết thanh | Renin huyết tương |
|-------------------------|------------------------|-------------------|
| Aldosteronism tiên phát | Cao | Thấp |
| Aldosteronism thứ phát | Cao | Cao |

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Lưu ý và cảnh báo

- Mẫu kiểm tra ở cả mức độ cao và thấp và bệnh phẩm huyết thanh phải cùng tiến hành mỗi lần để đánh giá độ tin cậy của kết quả.
- Phải dùng nước cất hoặc nước đã khử Ion để pha loãng
- Phải đeo găng tay khi làm thí nghiệm
- Tất cả mẫu phải được để ổn định ở nhiệt độ phòng trước khi dùng. Tránh việc đông và tan đông mẫu lặp lại
- Đường chuẩn phải được thiết lập cho mỗi lần chạy

- Tránh bọt khí trong giếng (Microwell) sẽ ảnh hưởng tới mật độ quang học (ODs). Cần thận loại bỏ bọt khí trước khi đọc mẫu.
- Dung dịch nền (TMB) rất nhạy sáng và phải duy trì độ trong khi lưu trữ thích hợp. Khi dung dịch có màu xanh thì có nghĩa là dung dịch bị nhiễm bẩn, không ổn định và sẽ không được dung.
- Khi pha chế dung dịch nền và dung dịch dừng phản ứng, không được dùng pipet do nguy cơ tiếp xúc với kim loại
- Các chất và dung dịch thừa sau thí nghiệm phải được xem như là chất thải độc hại và phải tiêu hủy theo quy định.

2. Hạn chế

- Tất cả các tác chất được cân chỉnh dùng để xác định trực tiếp Aldosteron trong huyết thanh và nước tiểu người. Bộ kit này không dùng cho các mẫu vật khác của người hoặc động vật
- Không dùng huyết thanh bảo quản không đúng, huyết thanh bị tán huyết và các vấn đề khác
- Bất kỳ mẫu hay huyết thanh chứa “azide” hoặc “thimerosal” đều không tương thích với kit này
- Chỉ có Chất chuẩn A mới có thể dùng để pha loãng mẫu huyết thanh hoặc nước tiểu. Dùng các tác chất khác có thể làm kết quả sai lệch.

7. ĐỊNH LƯỢNG ALBUMIN

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng Albumin trong máu của người bệnh theo phương pháp so màu
pH= 4.1

Albumin + BCG \Rightarrow Albumin BCG complex

(BCG: Bromcresol green)

Phức hợp Albumin BCG có màu xanh tỷ lệ thuận với nồng độ Albumin trong mẫu thử được đo ở bước sóng 570 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Albumin, chất chuẩn Albumin, chất kiểm tra chất lượng Albumin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin, EDTA, không sử dụng chất chống đông Fluorid. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 5 tháng ở 2–8°C, 2.5 tháng ở 15 - 25°C. 4 tháng ở -15 đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 34 – 48 g/l.
- Albumin máu tăng trong: Mất nước (nôn nhiều, tiêu chảy nặng).
- Albumin máu giảm trong: Bệnh thận (suy thận, hội chứng thận hư, viêm cầu thận). Bệnh không có albumin huyết bẩm sinh. Giảm tổng hợp (viêm gan nặng, xơ gan), kém hấp thu, kém dinh dưỡng, Mất albumin (bong, tổn thương rỉ dịch, bệnh đường ruột mất protein). Ung thư, nhiễm trùng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
- Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL.
- Huyết thanh đục: Triglyceride < 1000 mg/dL .

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 kết quả)

8. ĐỊNH LƯỢNG ALPHA 1 ANTITRYPSIN

Alpha-1 antitrypsin, còn được gọi là AAT, là một protein do gan sản xuất, lưu thông trong máu. Nó giúp bảo vệ các cơ quan của cơ thể khỏi những tác động có hại của các protein khác. Thiếu AAT là một bệnh có tính di truyền. Những cá thể bị thiếu hụt AAT có thể liên quan đến bệnh lý về phổi hoặc bệnh gan (bệnh hen, khí phế thũng; xơ gan)

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng AAT bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Bệnh phẩm được cho thêm thuốc thử 1, sau đó cho thêm thuốc thử 2 (có chứa kháng thể kháng Alpha 1 Antitrypsin. Lúc này xảy ra phản ứng kết hợp giữa kháng thể và kháng nguyên có trong mẫu bệnh phẩm, tạo thành phức hợp ngưng kết. Có thể xác định được độ đục từ đó xác định được nồng độ Alpha 1 Antitrypsin thông qua đường chuẩn.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

2. **Phương tiện**

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: modular analytics e170, cobas 6000, cobas 8000, AU 640, 680, 2700, 5800 và một số máy khác.
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, ống sample cup
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

- Thuốc thử 1 (R1): đệm Phosphate: 12.7 mmol/L, pH 7.2; NaCl: 0.13 mol/L; PEG: 40 g/L; chất bảo quản
- Thuốc thử 2 (R2) Anti-human α 1-antitrypsin antibody: > 2 g/L; NaCl: 0.12 mol/L; chất bảo quản
- Dung dịch chuẩn (Chất chuẩn)
- Dung dịch QC (các mức)

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm

- Găng tay
- Bông , côn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Có thể sử dụng Huyết thanh, hoặc Huyết tương: chất chống đông Li-heparin, EDTA và citrate

Mẫu có thể ổn định:

7 ngày / nhiệt độ 20-25°C

3 tháng / nhiệt độ - 20°C, chỉ được phép đông một lần, mẫu có vẩn tủa cần ly tâm trước khi phân tích

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

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

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và máy sẽ tự động

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo: 16,6 – 36,8 $\mu\text{mol/L}$ (90 – 200 mg/dL hoặc 0,9 – 2,0 g/L)

Hệ số chuyển đổi:

mg/dL x 0,184 = $\mu\text{mol/L}$

mg/dL x 0,01 = g/L

g/L x 100 = mg/dL

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Các yếu tố có thể gây ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi:

Hemoglobin > 621 $\mu\text{mol/L}$ (1000 mg/dL)

Yếu tố dạng thấp > 100 IU/mL

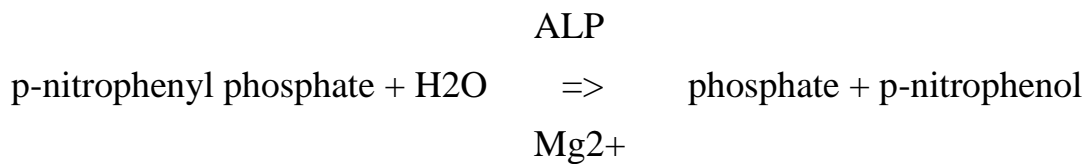
Xử trí: khi lấy mẫu tránh gây vỡ hồng cầu. Khi chuẩn bị thấy mẫu máu bị vỡ hồng cầu nên loại và lấy mẫu máu khác.

9. ĐO HOẠT ĐỘ PHOSPHATASE KIỀM (Alkaline phosphatase - ALP)

Phosphatase kiềm là một enzym gan được bài tiết theo dịch mật, thường tăng khi có tắc mật. Ngoài ra một số các nguyên nhân khác cũng có thể tăng phosphatase kiềm như bệnh xương...

I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ của enzym ALP trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym.



p-nitrophenol được tạo thành tỷ lệ thuận với hoạt độ ALP và được đo ở bước sóng 405 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm tự động như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm ALP, chất chuẩn ALP, chất kiểm tra chất lượng ALP.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH_4 -heparin. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 2 tháng ở -15°C đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Trị số bình thường:

Nam: 40 – 129 U/L.

Nữ: 35 – 104 U/L.

+ ALP máu tăng trong: Cường cận giáp, Thiếu Vitamin D, Bệnh xương (còi, mềm, xơ cứng, ung thư, sarcom). Bệnh gan (Tắc mật ngoài gan, Viêm ống mật, K gan, Abces gan), bệnh thận...

+ ALP máu giảm trong: giảm ALP gia đình, suy giáp, thiếu Vitamin C...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 70 mg/dL hay 1197 μ mol/L.
- Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.
- Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dL .

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 kết quả).

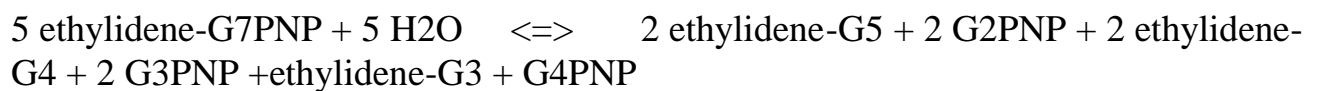
10. ĐO HOẠT ĐỘ AMYLASE

I. NGUYÊN LÝ

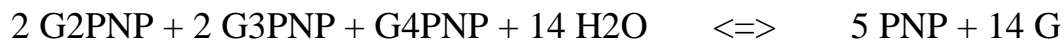
Amylase là enzyme thủy phân tinh bột, có nguồn gốc từ tụy và tuyến nước bọt. Xét nghiệm amylase thường được chỉ định trong bệnh lý tuyến tụy hoặc tuyến nước bọt...

Hoạt độ của enzym α Amylase trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym.

α -amylase



α -glucosidase



Đậm độ màu sắc của PNP hình thành tỷ lệ thuận với hoạt độ amylase huyết thanh và có thể đo được ở bước sóng 415 nm

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640, MODULAR P, Hitachi 902, 912....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm α Amylase, chất chuẩn α Amylase, chất kiểm tra chất lượng α Amylase.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH₄-heparin hoặc EDTA (nếu dùng EDTA, kết quả thấp hơn 5-10% so với huyết thanh). Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 1 tháng ở 2–8°C, 7 ngày ở 20°C đến 25°C .

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Trị số bình thường: < 100 U/L

+ Amylase máu tăng trong: Bệnh tụy (viêm tụy cấp và mạn), Bệnh đường mật, Bệnh ổ bụng không phải bệnh tụy (loét thủng dạ dày, tắc ruột...), Quai bị, tắc tuyến nước bọt, Tăng Amylase ở người bình thường (tăng Macro Amylase)

+ Amylase giảm khi tụy bị hoại tử lan rộng, ngoài ra nó còn giảm trong một số bệnh lý như: Viêm tụy mạn tính. Viêm tụy mạn tính tiến triển. Xơ hoá ống dẫn tụy tiến triển.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.

- Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.

- Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dL .

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 kết quả)

Lưu ý: Nước bọt và mồ hôi có chứa α Amylase nên tránh để nhiễm những chất này vào bệnh phẩm hay hóa chất.

11. ĐỊNH LƯỢNG AMONIAC

Trong điều kiện bình thường Amoniac được chuyển đổi thành ure tại gan và sau đó được thận bài xuất. Nếu có một rối loạn thực thể ngăn không cho quá trình chuyển đổi nói trên xảy ra, NH₃ sẽ tích tụ trong dòng tuần hoàn. Khi tích tụ trong máu với nồng độ cao sẽ gây ra một tình trạng bệnh não gan.

I. NGUYÊN LÝ

Theo phương pháp động học enzym. Dựa trên phản ứng sau:
Enzym glutamate dehydrogenase (GLDH) xúc tác phản ứng với sự tham gia của NADPH theo sơ đồ sau:



Lượng NADPH₂ bị oxy hóa trong giai đoạn phản ứng sẽ tương đương với lượng NH₃ có trong mẫu bệnh phẩm. Có thể đo được sự giảm mật độ quang học do NADPH chuyển thành NADP ở bước sóng vùng tử ngoại

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 kỹ thuật viên.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

Máy phân tích hóa sinh tự động: Hitachi 912, 917, cobas 6000; các máy AU 640, 2700, 5800 và một số máy khác.

2.2. Hóa chất

R1 Triethanolamine buffer: 151 mmol/L, pH 8.6;

α -ketoglutarate: 16.6 mmol/L; ADP: ≥ 1.2 mmol/L; chất bảo quản

R2 NADPH: ≥ 458 μ mol/L; GLDH: ≥ 24.3 U/mL (EC 1.4.1.3; bovine liver; 25°C); triethanolamine buffer: 151 mmol/L, pH 8.6;

α -ketoglutarate: 16.6 mmol/L; ADP: ≥ 1.2 mmol/L; chất bảo quản.

(tham khảo theo hoá chất của Roche diagnostic)

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm

- Găng tay, dây garô
- Bông, côn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

- Cần giải thích cho người bệnh và người nhà mục đích xét nghiệm
- Người bệnh cần nhịn ăn 8 - 10h trước khi lấy máu
- Tránh hoạt động thể lực quá mức và hút thuốc trước khi lấy máu xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Có y lệnh của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy máu vào ống chống đông EDTA
- Mẫu cần được đậy nắp chặt, bảo quản lạnh và chuyển ngay xuống phòng xét nghiệm. Tại phòng xét nghiệm cần ly tâm để phân tích mẫu càng sớm càng tốt.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn: dựa trên 2 điểm

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

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 người bệnh); chọn test và vận hành theo protocol của máy, máy sẽ tự động phân tích.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo:

- Nam: 14.7 - 55.3 $\mu\text{mol/L}$ (25-94 $\mu\text{g/dL}$)
- Nữ: 11.2 - 48.2 $\mu\text{mol/L}$ (19-82 $\mu\text{g/dL}$)
 - Trẻ em: 28 - 57 $\mu\text{mol/L}$ (40 - 80 mg/L)
 - Trẻ sơ sinh: 64 - 1072 $\mu\text{mol/L}$ (90 - 150 mg/L)

Hệ số chuyển đổi: $\mu\text{g/dL} \times 0.587 = \mu\text{mol/L}$

+ **Tăng NH_3 máu:** Xơ gan, hội chứng tăng nitơ máu, Xuất huyết tiêu hóa, Suy tim,

Suy gan, Leucemie, Bệnh lý tan máu ở trẻ sơ sinh, Viêm màng ngoài tim
+ **Giảm NH₃ máu**: Tăng huyết áp vô căn; Tăng huyết áp ác tính

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Các yếu tố ảnh hưởng

- Hút thuốc lá; Hoạt động thể lực với cường độ cao
- Chế độ ăn có nhiều hoặc quá ít đạm (protein)
- Bilirubin liên hợp > 1026 μmol/L(>60 mg/dL).
- Hiện tượng huyết tán: khi Hb > 31 μmol/L(>50 mg/dL).
- Các thuốc làm tăng NH₃: Heparin, thuốc lợi tiểu (furosemid)
- Các thuốc làm giảm NH₃: Neomyein, tetracyclin, diphenyl hydramin

2. Xử trí

Nhắc người bệnh tránh hoạt động thể lực cường độ cao trước thời gian lấy mẫu.
Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu. Mẫu vỡ hồng cầu cần loại và lấy lại mẫu máu khác.

12. ĐỊNH LƯỢNG AMH GEN II (Anti Mullerian Hormon)

AMH là một dimer glycoprotein gồm 2 monome có trọng lượng phân tử 72 kDa liên kết với nhau bằng cầu nối disunfit. AMH là hormon ức chế ống Muller (hai ống phôi sẽ phát triển thành đường sinh dục nữ). Ở nam giới, AMH được sản sinh bởi tế bào Sertoli (trong tinh hoàn). AMH tiếp tục được hai tinh hoàn tiết ra tới thời kỳ dậy thì và sau đó giảm chậm dần sau dậy thì đến mức thấp (dạng lắng cặn). Ở nữ giới, AMH được các tế bào hạt buồng trứng tiết ra với mức độ thấp sau sinh tới thời kỳ mãn kinh và sau đó giảm tới mức không thể phát hiện được.

I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng AMH trong huyết thanh và huyết tương chống đông bằng lithium heparin ở người.

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên-kháng thể, theo phương pháp sandwich: Trong xét nghiệm này calibrator, control và mẫu được ủ trong các giếng đã được phủ kháng thể AMH. Sau lần ủ và rửa thứ nhất, bổ sung phức hợp kháng thể AMH Gen II-biotin vào từng giếng. Sau lần ủ và rửa thứ hai, bổ sung enzym liên hợp-Streptavidin vào giếng. Sau lần ủ và rửa thứ ba, bổ sung cơ chất TMB vào giếng. Cuối cùng bổ sung dung dịch ngừng phản ứng. Độ đậm màu tỉ lệ thuận với nồng độ AMH có trong mẫu thử, được đo với bước sóng kép 450nm và giữa 600 - 630 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng Beckman Coulter (Mã: A79765)
 - + Đĩa phản ứng (96 giếng)
 - + Phức hợp kháng thể AMH thể hệ thứ 2-biotin
 - + Cơ chất TMB
 - + Dung dịch rửa I
 - + Dung dịch pha loãng
 - + Dung dịch ngừng phản ứng A
 - + Phức Enzym liên hợp-Streptavidin (HRP)

+ Dung dịch đệm

Trong đó: Enzym liên hợp-Streptavidin là Streptavidin liên hợp với HRP (Horseradish Peroxidase). TMB: 3,3',5,5' tetramethyl-benzidine.

- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp

+ AMH Gen II Calibrator và Control A79766

+ Pipet chính xác loại 10-1000 μ l

+ Các tube

+ Đầu côn pipet dùng một lần

+ Máy lắc, tốc độ 600-800 vòng/phút

+ Máy trộn kiểu votex

+ Vải thấm hút

+ Nước khử ion

3. Người bệnh

Không cần nhịn ăn và không phụ thuộc chu kỳ kinh nguyệt (nữ)

3.1. Đối với phụ nữ: xét nghiệm AMH được chỉ định để:

- Đánh giá khả năng sinh sản của buồng trứng
- Đánh giá đáp ứng của buồng trứng đối với liệu pháp kích buồng trứng
- Góp phần chẩn đoán hội chứng buồng trứng đa nang.
- Đánh giá và theo dõi ung thư buồng trứng.
- Dự báo thời gian mãn kinh.

3.2. Đối với bé trai: xét nghiệm AMH được chỉ định để:

- Chẩn đoán phân biệt rối loạn giới tính
- Chẩn đoán tinh hoàn lạc chỗ

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin lithium.

- Để co cục máu rồi ly tâm, tách huyết thanh ra tube, đậy chặt nắp, có thể bảo quản ở 2 - 8°C trong 48 giờ, lâu hơn cần bảo quản ở - 20°C. Tránh làm đông và rã đông nhiều lần.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1 Chuẩn bị mẫu

- Đối với mẫu trẻ sơ sinh nam cần pha loãng mẫu với dung dịch pha loãng theo tỉ lệ 1:10 trước khi xét nghiệm

- Đối với các mẫu khác thì không cần pha loãng.

2.2. Chuẩn bị thuốc thử:

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

2.1.1. Dung dịch rửa:

Hòa loãng 10 lần dung dịch rửa I với nước khử ion, ổn định 1 tháng ở nhiệt độ phòng.

2.1.2. Giếng:

Chọn số giếng theo yêu cầu, những giếng còn lại để trong bao kín có hạt chống ẩm.

2.1.3. Chuẩn:

- Từ A đến G với nồng độ lần lượt là: 0 ng/mL; 0,16 ng/mL; 0,4 ng/mL; 1,2 ng/mL; 4,0 ng/mL; 10,0 ng/mL và 22,5 ng/mL.
- Bảo quản ở - 20° C sau khi nhận hàng. Để sử dụng nhiều lần, chia nhỏ và để - 20°C.
- Sau lần sử dụng đầu tiên, ống đã rã đông ổn định 7 ngày khi bảo quản ở 2 – 8° C
- Không rã đông quá 2 lần

2.1.4. Chất chứng:

- Mức 1 và mức 2
- Được giữ đông sau khi nhận hàng ở - 20° C. Để sử dụng nhiều lần, chia nhỏ và để ở -20° C.
- Sau lần sử dụng đầu tiên, ống đã rã đông ổn định 7 ngày khi bảo quản ở 2 – 8° C
- Không rã đông quá 2 lần

2.1.5. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng 190 phút
- Tiến hành vẽ đường cong chuẩn, khi QC đạt mới tiến hành đo mẫu

Các bước tiến hành như sau:

- + Đánh dấu các giếng cần sử dụng
- + Hút 20 μ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- + Bổ sung thêm 100 μ l dung dịch đệm vào mỗi giếng
- + Ủ trên máy lắc (tốc độ khoảng 600 - 800 vòng/phút) trong 60 phút ở nhiệt độ phòng
- + Rửa các giếng 5 lần với 400 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100 μ l phức hợp kháng thể AMH Gen II-biotin vào mỗi giếng
- + Ủ trên máy lắc (tốc độ 600 - 800 vòng/phút) trong 60 phút ở nhiệt độ phòng
- + Rửa các giếng 5 lần với 400 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100 μ l phức enzym liên hợp - streptavidin vào mỗi giếng
- + Ủ trên máy lắc (tốc độ khoảng 600-800 vòng/phút) trong 30 phút ở nhiệt độ phòng
- + Rửa các giếng 5 lần với 400 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100 μ l dung dịch tạo màu TMB vào mỗi giếng. Tránh tiếp xúc trực tiếp ánh sáng.
- + Ủ trên máy lắc 8-12 phút ở nhiệt độ phòng.
- + Hút 100 μ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng
- + Tiến hành đo

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Đối với phụ nữ

- Đánh giá khả năng sinh sản của buồng trứng: Nồng độ AMH trong máu (tính bằng ng/mL) tương quan trực tiếp với số lượng nang trứng, ít thay đổi trong chu kỳ kinh nguyệt nên có thể sử dụng để đánh giá khả năng sinh sản của buồng trứng tốt hơn so với FSH
- Khả năng sinh sản tối ưu: 4,0 - 6,8 ng/mL; khả năng sinh sản tốt: 2,2 – 4,0 ng/mL; khả năng sinh sản kém: 0,3 – 2,2 ng/mL; khả năng sinh sản rất kém: 0,0 – 0,3ng/mL
- Đánh giá đáp ứng của buồng trứng: đối với liệu pháp kích buồng trứng: Nồng độ AMH cũng tương quan chặt chẽ với số lượng noãn nên có thể sử dụng để đánh giá đáp ứng của buồng trứng đối với liệu pháp kích buồng trứng để phục vụ cho liệu pháp thụ tinh trong ống nghiệm IVF (In vitro fertilization) hoặc liệu pháp tiêm tinh trùng vào bào tương của trứng ICSI (Intracytoplasmic sperm injection) trong thụ tinh nhân tạo.

- Chẩn đoán Hội chứng buồng trứng đa nang: thường AMH > 6,8 ng/mL.
- Đánh giá và theo dõi ung thư buồng trứng: nồng độ AMH có thể được sử dụng để chẩn đoán ung thư tế bào granulosa buồng trứng với độ nhạy khoảng 76 đến 93%. Nồng độ AMH giảm vài ngày sau phẫu thuật khối u buồng trứng và lại tăng lên nếu u tái phát
- Dự báo thời gian mãn kinh: Ở phụ nữ, nồng độ AMH giảm dần theo tuổi. AMH có giá trị dự báo thời kỳ mãn kinh tốt hơn so với FSH. Nếu AMH < 0,2 ng/mL, lứa tuổi 35-39 sẽ mãn kinh sau 9,94 năm, lứa tuổi 45 – 48 sẽ mãn kinh sau 5,99 năm

2. Đối với bé trai

- Chẩn đoán phân biệt rối loạn giới tính: nồng độ AMH trong máu bằng 0 hoặc rất thấp và nồng độ các androgen trong máu thấp: không có tinh hoàn hoặc không phát triển giới tính nam.
- Chẩn đoán tinh hoàn lạc chỗ: khám không thấy có tinh hoàn nhưng nồng độ AMH và các androgen bình thường

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Mẫu có kết quả vượt quá 22,5 ng/mL thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch pha loãng.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

13. ĐỊNH LƯỢNG ANTI-CCP (Antibody to cyclic citrullinative peptid)

Anti CCP (Anti cyclic citrullinated peptides) là kháng thể kháng Peptid vòng chứa Acid Amin Citrulline. Sự hiện diện của kháng này có thể giúp chẩn đoán bệnh viêm khớp dạng thấp nhiều năm trước khi các triệu chứng của bệnh xuất hiện.

I. NGUYÊN LÝ

Anti-CCP được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Anti-CCP có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng Anti-CCP đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng Anti-CCP đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ Anti-CCP có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- + Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- + Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Anti-CCP, chất chuẩn Anti-CCP, chất kiểm tra chất lượng Anti-CCP.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin, EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 3 ngày ở 2–8°C, 1 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Anti-CCP. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Anti-

CCP. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Anti-CCP đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

-Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Trị số bình thường: <17 U/ml

+ Anti-CCP tăng bệnh lý trong: Trong Viêm khớp dạng thấp, Anti-CCP tăng sớm nên có thể giúp cho chẩn đoán sớm viêm khớp dạng thấp.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL .

- Tán huyết: Hemoglobin <0.5 g/dl.

- Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

- RF < 1500 IU/mL

- Biotin <30 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

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).

14. ĐỊNH LƯỢNG ANTI-TG

(Anti thyroglobulin)

I. NGUYÊN LÝ

Anti-TG là kháng thể kháng TG. Xét nghiệm Anti-TG thường được chỉ định trong một số bệnh về tuyến giáp như: viêm tuyến giáp Hasimoto, ung thư giáp, Basedow.

Anti-TG được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên: Anti-TG trong mẫu thử được ủ với TG đánh dấu biotin (pha rắn) và kháng thể của mẫu bệnh phẩm gắn kết với kháng nguyên.

Sau khi thêm kháng thể kháng TG đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) và các vi hạt phủ streptavidin, phức hợp miễn dịch tạo thành trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác của biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ Anti-TG trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ anti-TG có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Anti-TG, chất chuẩn Anti-TG, chất kiểm tra chất lượng Anti-TG .

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Na-Heparin và K2,K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. - - Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 3 ngày ở 2–8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Anti-TG. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Anti-TG. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Anti-TG đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 115 IU/mL
- Anti-TG máu tăng trong: Một số bệnh về tuyến giáp như: viêm tuyến giáp Hashimoto, ung thư giáp, Basedow.
- Anti-TG máu giảm trong: Sự giảm nồng độ Anti-TG cũng có giá trị theo dõi hiệu quả của phương pháp điều trị của những bệnh trên.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL .
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 1.69 g/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.
 - + Biotin < 60 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
 - + RF < 300 IU/mL
 - + Nồng độ TG > 2000 ng/mL có thể dẫn tới sự tăng giả Anti-TG, trường hợp này kết quả Anti-TG không nên ghi nhận.
- 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).

15. ĐỊNH LƯỢNG ANTI-TPO (Anti thyroid peroxydase)

I. NGUYÊN LÝ

Anti-TPO là kháng thể kháng TPO. Xét nghiệm Anti-TPO thường được chỉ định trong Viêm tuyến giáp Hasimoto. Một số bệnh về tuyến giáp như: viêm tuyến giáp, Basedow.

Anti-TPO được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên: Bệnh phẩm được ủ với kháng thể kháng TPO đánh dấu phức hợp ruthenium.

Sau khi thêm TPO đánh dấu biotin và các vi hạt phủ streptavidin, kháng thể kháng TPO trong mẫu cạnh tranh với kháng thể kháng TPO đánh dấu phức hợp ruthenium vào vị trí gắn kết trên kháng nguyên TPO đánh dấu biotin. Toàn bộ phức hợp 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 lên bề mặt của điện cực. Những thành phần không gắn kết sẽ bị thải ra ngoài buồng đo bởi dung dịch ProCell. Cho điện áp vào điện cực sẽ tạo nên sự phát quang hóa học được đo bằng bộ khuếch đại quang tử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Anti-TPO, chất chuẩn Anti-TPO, chất kiểm tra chất lượng Anti-TPO .

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là NH₄Li, Na-Heparin và K₃-EDTA, Natri Citrat, Na fluoride, K Oxalate. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 3 ngày ở 2–8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: <34 IU/mL

- Anti-TPO máu tăng trong: Viêm tuyến giáp Hashimoto. Một số bệnh về tuyến giáp như: viêm tuyến giáp, Basedow.

V. NHỮNG SAI SỐT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin <1.5 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2100 mg/dl.

+ Biotin <10 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 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).

16. ĐỊNH LƯỢNG APO A1

I. NGUYÊN LÝ

Miễn dịch đo độ đục: Apo A1 phản ứng đặc hiệu với kháng thể kháng Apo A1 tạo hợp chất không tan làm đục môi trường. Mật độ quang của môi trường phản ứng tỷ lệ với nồng độ Apo A1 trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,...

2.2. Hóa chất

- Anti-Apo A1 antibodies
- Tris buffer (pH 7.4)
- Sodium chlorid
- Polyethylen glycol
- Chất bảo quản

Hóa chất được bảo quản ở 2 – 8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh: Cần được giải thích về mục đích của xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm: theo quy định của bộ y tế, có chỉ định xét nghiệm của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

2 ml huyết thanh

Huyết thanh ổn định trong vòng 8 ngày ở nhiệt độ 2-8⁰C, 1 ngày ở nhiệt độ 15-25⁰C

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, huyết thanh kiểm tra chất lượng xét nghiệm Apo A1

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm Apo A1 theo protocol của máy.

- Tiến hành chuẩn Apo A1.

- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm Apo A1. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo protocol của máy.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).

- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường

- Nam: 105 – 175 mg/dl
- Nữ: 105 – 205 mg/dl

2. Apo A1 giảm

Apo A1 máu giảm là yếu tố dự báo nguy cơ xơ vữa động mạch.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Bệnh phẩm vỡ hồng cầu sẽ ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

17. ĐỊNH LƯỢNG APO B

I. NGUYÊN LÝ

Miễn dịch đo độ đục: Apo B phản ứng đặc hiệu với kháng thể kháng Apo B tạo hợp chất không tan làm đục môi trường. Mật độ quang của môi trường phản ứng tỷ lệ với nồng độ Apo B trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất:

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,...

2.2. Hóa chất

- Anti-Apo B antibodies
- Tris buffer (pH 7.4)
- Sodium chlorid
- Polyethylen glycol
- Chất bảo quản

Hóa chất được bảo quản ở 2 – 8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Cần được giải thích về mục đích của xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Ghi đầy đủ các thông tin tên, tuổi, giới tính, khoa, phòng, chẩn đoán bệnh, số giường.....Phiếu xét nghiệm phải có chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

2 ml huyết thanh

Huyết thanh; ổn định trong vòng 8 ngày ở nhiệt độ 2 - 8⁰C, 1 ngày ở nhiệt độ 15-25⁰C.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, huyết thanh kiểm tra chất lượng xét nghiệm Apo B

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm Apo B theo protocol của máy.
- Tiến hành chuẩn Apo B.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm Apo B. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho

người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo protocol của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường

- Nam: 60 - 140 mg/dl
- Nữ: 66 - 130 mg/dl

2. Apo B tăng

Apo B máu tăng là yếu tố dự báo nguy cơ xơ vữa động mạch.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Bệnh phẩm vỡ hồng cầu sẽ ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

18. ĐỊNH LƯỢNG AFP (Alpha fetoprotein)

AFP là glycoprotein trọng lượng phân tử 70 000 Daltons, được sản xuất bởi túi noãn, tế bào gan chưa biệt hóa và đường tiêu hóa của bào thai. Xét nghiệm AFP thường được chỉ định trong bệnh ung thư gan nguyên phát, xơ gan và theo dõi trong điều trị.

I. NGUYÊN LÝ

AFP được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. AFP có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng AFP đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng AFP đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ AFP có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hoa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm AFP, chất chuẩn AFP, chất kiểm tra chất lượng AFP.

3. Người bệnh: Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm: Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na-Heparin và K3-EDTA và Natri Citrat. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C. Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 7.0 ng/ml
- AFP máu tăng trong: Ung thư gan nguyên phát có mức tăng cao nhất, Ung thư gan thứ phát mức tăng ít hơn cả về tần suất và nồng độ, U nguyên bào phôi, Một số bệnh gan như viêm gan, xơ gan...., AFP cùng với β HCG và uE3 là bộ ba xét nghiệm dùng cho chẩn đoán trước sinh đối với bệnh Down và dị tật bệnh sinh như tật nứt đốt sống...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL hay 1112 μ mol/L.
- + Tán huyết: Hemoglobin < 2.2 g/dl.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
- + Biotin < 60 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
- + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ AFP tới $1\ 210\ 000$ ng/mL
- + 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).

19. ĐO HOẠT ĐỘ ALT (Alanin transaminase)

ALT còn được gọi là GPT (Glutamat pyruvat transaminase)

Đo hoạt độ ALT thường được làm cùng với AST để xác định bệnh lý về gan, theo dõi tiến triển của bệnh. Ngoài ra ALT cũng được phối hợp với một số xét nghiệm khác như GGT để theo dõi người bệnh nghiện rượu.

I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ của enzym ALT trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzyme dựa trên phản ứng:



Hoạt độ ALP được đo bằng sự giảm nồng độ NADH ở bước sóng 340 nm theo thời gian.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh của hãng Roche (MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).

- Máy ly tâm

- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.

- Pipét tự động các loại 1000 μ l, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.

- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.

- Băng, côn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.

- Bàn lấy máu.
- Găng tay

2.2. Hoá chất

- Hoá chất làm xét nghiệm ALP của hãng ROCHE, OLYMPUS.
- Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

2.3. Bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch cho vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông
- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh
- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 7 ngày ở nhiệt độ 2-8⁰C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

- 4. Phiếu xét nghiệm:** Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm ALT trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi trong chương trình cài đặt.
- Dựng đường chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.
- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm đo hoạt độ ALP được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.
- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường

- Nam: < 41 U/L.

- Nữ: <31 U/L.

2. ALT máu tăng trong

- Các bệnh gan: viêm gan cấp (tăng nhiều, gấp 50-150 lần bình thường) và mạn (tăng gấp 5- 6 lần bình thường), xơ gan, ung thư gan.
- Các bệnh về tim: suy tim xung huyết, viêm màng ngoài tim, nhồi máu cơ tim
- Viêm túi mật.
- Nhiễm độc rượu cấp.
- Tai biến mạch máu não.
- Viêm tụy cấp hoại tử.
- Hoại tử thận, cơ.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

+ Khi thấy kết quả ALT bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

+ Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường về màu sắc huyết tương hay không?

+ Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán

+ Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

+ Mẫu máu vỡ hồng cầu có thể thay đổi kết quả.

+ Các thuốc có thể làm tăng hoạt độ ALT như: thuốc ức chế men chuyển angiotensin, acetaminophen, thuốc chống co giật, một số loại kháng sinh, thuốc điều trị tâm thần, benzodiazepin, estrogen, sulfat sắt, heparin, interferon, thuốc làm giảm mỡ máu, thuốc chống viêm không phải steroid, salicylat, thuốc lợi tiểu loại thiazid.

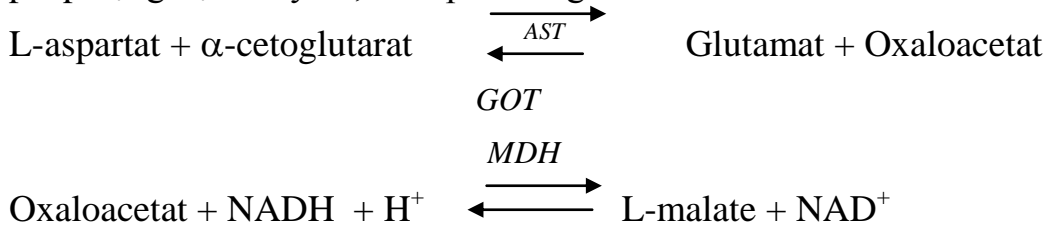
20. ĐO HOẠT ĐỘ AST (Aspatat transaminase)

AST còn được gọi là GOT (Glutamat oxaloacetat transaminase)

I. NGUYÊN LÝ

Do hoạt độ AST thường được làm cùng với ALT để xác định bệnh lý và theo dõi tiến triển của gan hay tim mạch,. Ngoài ra AST cũng được phối hợp với một số xét nghiệm khác như GGT để theo dõi người bệnh nghiện rượu.

Hoạt độ của enzym AST trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzyme, theo phản ứng:



Hoạt độ AST được đo bằng sự giảm nồng độ NADH theo thời gian ở bước sóng 340 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 bác sĩ và 01 kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh của hãng Roche (MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).
- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000µl, 500 µl, 100µl, 50 µl và 10 µl.
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, cùn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.
- Găng tay

2.2. Hoá chất

- + Hoá chất làm xét nghiệm AST của hãng ROCHE, OLYMPUS.
- + Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

- + Chuẩn của AST.

2.3. Bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông
- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh
- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 7 ngày ở nhiệt độ 2-8⁰C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhìn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm AST trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi trong chương trình cài đặt.
- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.
- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm đo hoạt độ AST được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.
- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số bình thường:

- Nam: < 37 U/L.
- Nữ: < 31 U/L .

- AST máu tăng trong các nguyên nhân:

- Các bệnh gan (tỉ số AST/ALT <1): viêm gan do virus cấp, viêm gan do thuốc (rifampicin, INH, salicylat, heparin), Viêm gan nhiễm độc (CCl₄, amanit phalloid), tắc mật do các nguyên nhân không phải ung thư, apxe gan.

- Các bệnh gan (tỉ số AST/ALT >1): Xơ gan, Viêm gan do rượu, Xâm nhiễm gan (do di căn ung thư, nhiễm sarcoid, lao, u lympho, luput ban đỏ).
- Các bệnh về tim: suy tim mất bù (gan xung huyết), viêm cơ tim, nhồi máu cơ tim, bóp tim ngoài lồng ngực, phẫu thuật tim, sau thông tim (tỉ số AST/ALT>1).
- Viêm túi mật.
- Nhiễm độc rượu cấp.
- Viêm tụy cấp hoại tử.
- Viêm đa cơ, viêm da và cơ,
- Hội chứng vùi lấp.

- Hoạt độ AST có thể giảm trong các nguyên nhân chính sau:

- Bệnh Beriberi.
- Nhiễm toan ceton do đái tháo đường.
- Lọc máu.
- Có thai
- Hội chứng ure máu cao.

VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Khi thấy kết quả AST bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:
 - + Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường về màu sắc huyết tương hay không?
 - + Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:
 - + Mẫu máu bị vỡ hồng cầu
 - + Các thuốc có thể làm tăng hoạt độ AST là: Acetaminophen, allopurinol, một số loại kháng sinh, acid ascorbic, **chlpropamid**, cholestyramin, cholinergic, clofibrat, codein, statin, hydralazin, isoniazid, meperidin, methyl dopa, morphin, thuốc ngừa thai uống, phenothiazin, procainamid, pyridoxin, salicylat, sulfonamid, verapamil, vitamin A.
 - + Các thuốc có thể làm giảm hoạt độ AST là; metronidazol, trifluoperazin.

21. ĐỊNH LƯỢNG α 1 ACID GLYCOPROTEIN

I. NGUYÊN LÝ

α 1 Acid glycoprotein là một protein pha cấp. Xét nghiệm α 1 Acid glycoprotein thường được sử dụng trong các trường hợp viêm, nhiễm trùng.

α 1 Acid glycoprotein trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp miễn dịch đo độ đục.

Kháng thể kháng α 1 Acid glycoprotein trong thuốc thử kết hợp với α 1 Acid glycoprotein trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ α 1 Acid glycoprotein có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Hitachi 904, 912, MODULAR P...

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm α 1 Acid glycoprotein, chất chuẩn α 1 Acid glycoprotein, chất kiểm tra chất lượng α 1 Acid glycoprotein.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin hay EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 72 giờ ở 2–8°C, 6 tháng ở -15°C đến -25°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm α 1 Acid glycoprotein. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm α 1 Acid glycoprotein. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm α 1 Acid glycoprotein đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số bình thường: 50 – 120 mg/dL

α 1 Acid glycoprotein là một protein pha cấp nên nó tăng trong các tình trạng viêm và nhiễm trùng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi:

- + Huyết thanh vàng : Bilirubin <1026 μ mol/L
- + Huyết thanh đục: Triglycerid < 750 mg/dL
- + Vỡ hồng cầu: Hb <1000 mg/dL
- + Yếu tố thấp < 2000 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).

22. ĐỊNH LƯỢNG β 2 MICROGLOBULIN

β ₂ microglobulin là một thành phần cấu tạo của phức hợp phù hợp mô chính viết tắt là MHC (major histocompatibility complex) hay kháng nguyên phù hợp mô. Trong lâm sàng việc định lượng beta-2 microglobulin có thể giúp ích chẩn đoán một

số bệnh ác tính như ung thư hạch, ung thư máu hoặc đa u tủy. Cũng có giá trị trong việc đánh giá đối với các bệnh viêm và thận nặng mạn tính.

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng beta-2 microglobulin dựa trên nguyên lý miễn dịch, theo phương pháp miễn dịch đo độ đục. Mẫu bệnh phẩm được cho thêm thuốc thử R1 (đệm), sau đó cho thêm thuốc thử 2 (kháng thể kháng β 2-microglobulin-latex) và phản ứng bắt đầu xảy ra: hạt Latex- gắn kháng thể β 2-microglobulin phản ứng với kháng nguyên có trong mẫu bệnh phẩm để tạo thành phức hợp kháng nguyên- kháng thể. Nồng độ β 2 microglobulin tỷ lệ với độ đục, dựa trên đường chuẩn sẽ tính được nồng độ β 2 microglobulin.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

01 Cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: modular analytics e170, cobas 6000, cobas 8000, AU 640, 680, 2700, 5800 và một số máy khác.

- Máy ly tâm

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

- Pipet các loại, ống sample cup

- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng

- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

- Thuốc thử 1 (R1): Đệm TRISA/HCl : 23 g/L, pH 8.7; NaCl: 19 g/L; EDTA: 2 g/L; chất bảo quản

- Thuốc thử 2 (R2) Latex particles coated with polyclonal anti-human β 2-microglobulin antibody (rabbit): 0.5 g/L; chất bảo quản

a) TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethane

- Dung dịch chuẩn

- Dung dịch QC (2 mức)

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm

- Găng tay

- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Cần có phiếu xét nghiệm ghi rõ trong phiếu yêu cầu xét nghiệm. Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Phân tích mẫu trong máu, có thể dùng: Huyết thanh; Huyết tương: chất chống đông: Li-heparin; EDTA

Mẫu có thể ổn định :

3 ngày/ nhiệt độ: 2–8°C

6 tháng/ nhiệt độ: (-15)–(-25)°C

Chỉ đông mẫu một lần, mẫu bị vẩn, tủa phải ly tâm trước khi phân tích

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dụng cụ chuẩn

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

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 người bệnh); chọn test và theo protocol của máy

III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- **Trị số tham khảo:** 0,8 -2,2 mg/L (68 – 186 nmol/L)

- Nồng độ β 2 microglobulin có thể tăng: bệnh suy thận, leucemie mạn, Waldenström, Kahler, Lupus ban đỏ, viêm gan tiến triển

- **Hệ số chuyển đổi:**

mg/L x 84,7= nmol/L

mg/L = μ g/mL,

IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi:

Bilirubin > 923 $\mu\text{mol/L}$ (54mg/dL)

Hemoglobin > 621 $\mu\text{mol/L/L}$ (1000 mg/dL)

Yếu tố viêm khớp dạng thấp Rh > 200 IU/mL

- Xử trí:

Khi lấy máu tránh vỡ hồng cầu, khi ly tâm thấy mẫu vỡ hồng cầu có thể loại bỏ lấy mẫu máu khác.

23. ĐỊNH LƯỢNG BETA CROSSLAP (β - CT_x)

Phần cấu trúc hữu cơ của xương hơn 90% là collagen type 1. Trong quá trình chuyển hóa xương bình thường ở người trưởng thành collagen bị thoái giáng và các mảnh vỡ nhỏ đi vào máu và được bài tiết qua thận. Ở người cao tuổi hoặc bệnh lý xương (như loãng xương) collagen type 1 bị thoái giáng ở mức độ tăng lên và có sự gia tăng tương xứng với mức độ của các mảnh vỡ collagen trong máu. Trong các

mảnh vỡ này có telopeptides đầu tận C (β -CTx). Việc định lượng chất này trong huyết thanh hay còn gọi b-CrossLaps có thể đánh giá sự tiêu hủy xương và theo dõi hiệu quả của liệu trình điều trị như sử dụng một số thuốc chống loãng xương.

I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên nguyên lý miễn dịch kiểu Sandwich. Theo phương pháp điện hóa phát quang (ECLIA). Tổng thời gian của phản ứng 18 phút.

- Giai đoạn ủ thứ nhất: Gồm mẫu bệnh phẩm (Huyết tương, huyết thanh) và một kháng thể kháng β -CrossLap đơn dòng đã được gắn với biotin ủ với nhau. Kháng nguyên (chất cần phân tích) trong mẫu bệnh phẩm được giải phóng từ huyết thanh huyết tương.

- Giai đoạn ủ thứ hai: Sau khi bổ sung các vi hạt được bao phủ streptavidin và một kháng thể β -CrossLap đặc hiệu đơn dòng có gắn với một phức hợp ruthenium một phức hợp sandwich được hình thành, phức hợp được gắn kết vào pha rắn do sự tương tác giữa biotin và streptavidin.

- + Phức hợp phản ứng được đưa vào buồng đo. Tại đây các vi hạt (microparticles) được giữ lại bằng từ tính trên bề mặt điện cực. Những chất thừa được rửa đi bằng procell. Một dòng điện một chiều (2 voltage) tác động vào điện cực nhằm kích thích phát quang và cường độ tín hiệu ánh sáng phát ra có thể đo được bằng bộ phận nhân quang.

- + Kết quả được tính toán dựa vào đường cong chuẩn thu được bằng cách chuẩn 2 điểm và đường cong gốc được cung cấp từ nhà sản xuất. Nồng độ chất cần định lượng tỷ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- 01 Cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 kỹ thuật viên.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: Elecsys 1010, 2010, modular analytics e 170, cobas e 411, e 601 và một số máy khác phân tích miễn dịch khác.

- Máy ly tâm

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

- Pipet các loại, ống sample cup

- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng

- Giá đựng ống nghiệm

2.2.Hóa chất

- Phụ thuộc vào hệ máy phân tích miễn dịch. Hóa chất miễn dịch theo phương pháp điện hóa phát quang của Roche diagnostic gồm 3 lọ thuốc thử:

+ Lọ thứ nhất (M) - nắp trong, có chứa Streptavidin-coated microparticles thể tích 6.5 mL: Streptavidin-coated microparticles, 0.72 mg/mL; binding capacity: 470 ng biotin/ mg microparticles; chất bảo quản.

+ Lọ thứ hai (R1) -nắp màu ghi, có Anti-b-CrossLaps -Ab~biotin thể tích 10 ml: biotinylated monoclonal anti-b-CrossLaps antibody (mouse) 2.5 mg/L; phosphate buffer 100 mmol/l, pH 7.2; chất bảo quản.

+ Lọ thứ ba (R2) - nắp màu đen, có Anti-b-CrossLaps-Ab~Ru(bpy) thể tích 8 mL monoclonal anti- β -CrossLaps antibody (mouse) labeled with a ruthenium complex 2.4 mg/L; phosphate buffer 100 mmol/l, pH 7.2; chất bảo quản.

+ Procell

+ Clean cell

+ Dung dịch chuẩn

+ Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3.

- Thuốc thử được bảo quản ở nhiệt độ 2-8⁰C ổn định đến thời hạn ghi trên hộp.

- Thuốc thử đã mở nắp ổn định 4 tuần trên khay đựng hóa chất của máy (luôn bật)

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm

- Găng tay, dây garo

- Bông , cùn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà của họ về mục đích của xét nghiệm.

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng.

4. Phiếu xét nghiệm

Cần có phiếu xét nghiệm ghi rõ trong phiếu yêu cầu xét nghiệm. Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Có thể dùng: Huyết thanh

hoặc huyết tương: chất chống đông natri-heparin, EDTA

Mẫu huyết thanh, huyết tương có thể ổn định trong 24 giờ ở nhiệt độ 2 - 25°C; 3 tháng ở nhiệt độ -20°C; > 3 tháng ở -70°C.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level: 1, 2 và 3. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h. Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm. Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và vận hành theo protocol của máy

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo:

Theo nghiên cứu: Ganero P, Borel O, Delmas PD. Evaluation of a Fully Automated Serum Assay for C-Terminal Cross-Linking Telopeptide of Type I Collagen in Osteoporosis. Clin Chem 2001; 47(4):694–702.

| | n | mean | | SD | | Mean + 2SD | |
|----------------|-----|-------|-------|-------|-------|------------|-------|
| | | ng/mL | pg/mL | ng/mL | pg/mL | ng/mL | pg/mL |
| Nam | | | | | | | |
| 30-50 tuổi | 165 | 0.3 | 300 | 0.142 | 142 | 0.584 | 584 |
| > 50-70 tuổi | 109 | 0.304 | 304 | 0.200 | 200 | 0.704 | 704 |
| > 70 tuổi | 365 | 0.394 | 394 | 0.230 | 230 | 0.854 | 854 |
| Nữ | | | | | | | |
| Trước mãn kinh | 254 | 0.299 | 299 | 0.137 | 137 | 0.573 | 573 |
| Sau mãn kinh | 429 | 0.556 | 556 | 0.226 | 226 | 1.008 | 1008 |

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu máu bị huyết tán (khi Hb > 0,5 g / dL) có thể gây giảm nồng độ Beta Crosslap
- Mẫu huyết thanh/huyết tương chỉ để đông lạnh một lần. Mẫu có kết tủa phải được ly tâm trước khi thực hiện xét nghiệm.
- Đảm bảo các mẫu bệnh phẩm, calibrators và QC ở nhiệt độ phòng khoảng (20 - 25°C) trước khi phân tích.
- Khi để mẫu ở tại phòng có thể bị bốc hơi làm nồng độ Beta Crosslap tăng lên do vậy nên đậy nắp kín và phân tích trong vòng hai giờ.

24. ĐỊNH LƯỢNG BETA HCG

(beta human chorionic gonadotropin)

hCG là một glycoprotein có 2 tiểu đơn vị (alpha và beta). Trong quá trình mang thai, hCG do noãn tiết ra. Ở phụ nữ không mang thai, nó có thể tăng do u tế bào lá nuôi...định lượng nồng độ beta hCG để phát hiện phụ nữ mang thai, chẩn đoán chửa trứng, chẩn đoán trước sinh (phát hiện hội chứng Down).

I. NGUYÊN LÝ

Beta hCG được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Beta hCG trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng hCG từ chuột gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng hCG từ chuột được đánh dấu bằng ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ beta hCG có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8⁰C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: ba mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

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

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

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 3 ngày, ở -20⁰C được 12 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm. Để tránh những ảnh hưởng đến kết quả, bệnh phẩm, chuẩn cũng như control phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miễn cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông

thường dung control 3 miền: thấp, bình thường và cao. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: < 1mIU/mL
- Tăng trong trường hợp:
Có thai. Tăng cao hơn trong nhiễm độc thai và tăng cao nhất trong trường hợp chửa trứng, ung thư rau
βhCG cùng với αFP và E3 là bộ ba xét nghiệm dùng cho chẩn đoán trước sinh đối với bệnh Down và các dị tật bẩm sinh khác như tật nứt đốt sống ...
- Giảm trong trường hợp:
Nồng độ βhCG thấp hoặc không tương xứng với tuổi thai thì có thể là thai chết lưu hoặc thiếu năng rau

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|---|--|--|
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 410 μmol/L, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng biotin | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ > dải đo (0,1-10000 mIU/mL) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |
| Nồng độ > 750000 mIU/mL | Hiệu ứng hook effect | Pha loãng bệnh phẩm |

25. ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TRỰC TIẾP (BIL. D)

Bilirubin trực tiếp (Bil D) là bilirubin liên hợp (liên hợp với Acid Glucuronic), ít độc, tan được trong nước, nó lên màu trực tiếp với thuốc thử Diazo nên gọi là Bilirubin trực tiếp.

I. NGUYÊN LÝ

BIL.D trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp đo màu.



Trong môi trường nước, Bilirubin trực tiếp tác dụng với thuốc thử diazonium tạo phức hợp azobilirubin. Độ đậm màu của phức hợp Azobilirubin tỷ lệ thuận với nồng độ Bilirubin trực tiếp có trong mẫu thử, được đo ở bước sóng 546 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm BIL.D, chất chuẩn BIL.D, chất kiểm tra chất lượng BIL.D.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin hay EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. Bảo quản bệnh phẩm tránh ánh sáng. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 2 ngày ở 15-25°C, 6 tháng ở -15°C đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: $< 5.1 \mu\text{mol/l}$
- BIL.D máu tăng trong: Tắc mật trong gan: viêm gan, xơ gan. Tắc mật ngoài gan: do sỏi, ung thư, hạch to.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm cần điều chỉnh $\pm 10\%$ khi huyết thanh vàng. Huyết thanh đục do tăng lipid máu hay tán huyết đều ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm .

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 kết quả).

26. ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN GIÁN TIẾP (BIL. I)

I. NGUYÊN LÝ

Bilirubin gián tiếp là bilirubin tự do, độc và ít tan trong nước, nó lên màu gián tiếp với thuốc thử Diazonê gọi là Bilirubin gián tiếp tiếp.

Bilirubin gián tiếp (BIL.I) trong máu của người bệnh được tính toán trên cơ sở số liệu thu được từ định lượng BIL. T và BIL. D của người bệnh.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm BIL. T, BIL.D, chất chuẩn BIL. T, BIL.D, chất kiểm tra chất lượng BIL. T, BIL.D.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin hay EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. Bảo quản bệnh phẩm tránh ánh sáng. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 2 ngày ở 15 - 25°C, 6 tháng ở -15°C đến -25°C .

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm ở 4000 vòng trong 5 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

- Nếu trên máy không cài đặt công thức tính BIL. I thì tính toán theo công thức sau:
 $BIL. I = BIL. T - BIL. D$

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: $< 12 \mu\text{mol/l}$

- BIL.I máu tăng trong: Tắc mật trong gan: viêm gan, xơ gan. Tắc mật ngoài gan: do sỏi, ung thư, hạch to. Tan máu, vàng da sơ sinh.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Là những sai sót có thể gặp trong khi định lượng BIL. T, BIL. D

27. ĐỊNH LƯỢNG BILIRUBIN TOÀN PHẦN (BIL. T)

I. NGUYÊN LÝ

Bilirubin là sản phẩm thoái hóa của hemoglobin. Xét nghiệm bilirubin thường được chỉ định trong bệnh về gan, máu, tắc mật, vàng da...

BIL.T trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp đo màu, theo phản ứng:

Acid

Bilirubin + diazonium ion => azobilirubin

Trong môi trường acid Bilirubin tác dụng với thuốc thử diazonium tạo phức hợp azobilirubin. Độ đậm màu của phức hợp Azobilirubin tỷ lệ thuận với nồng độ BIL.T có trong mẫu thử được đo ở bước sóng 546 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm BIL.T, chất chuẩn BIL.T, chất kiểm tra chất lượng BIL.T.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-heparin hay EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. Bảo quản bệnh phẩm tránh ánh sáng và cần phân tích sớm.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm BIL T. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm BIL.T. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm BIL.T đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: $<17.1 \mu\text{mol/l}$

- BIL.T máu tăng trong: Tắc mật trong gan: viêm gan, xơ gan. Tắc mật ngoài gan: do sỏi, ung thư, hạch to. Vàng da tiêu huyết: thiếu máu tan huyết, sốt rét... Vàng da sơ sinh.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin $< 70 \text{ mg/dL}$ hay $1197 \mu\text{mol/L}$.

+ Tán huyết: Hemoglobin $< 1000 \text{ mg/dL}$.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride $<1000 \text{ mg/dL}$.

- 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 kết quả)

28. ĐỊNH LƯỢNG BNP

(BNP: B- Type Natriuretic Peptide)

Pre-pro-peptid gồm 134 gốc acid amin) khi tách ra thành proBNP (108 gốc acid amin) và một đoạn peptid tín hiệu (25 gốc acid amin). Khi được giải phóng vào máu, proBNP bị thủy phân tạo thành NT-proBNP (76 gốc acid amin, không có hoạt tính sinh học) và BNP (32 gốc acid amin, có hoạt tính sinh học). Ở người, NT-proBNP và BNP có hàm lượng lớn trong cơ tim thất trái, nhưng cũng có một ít trong mô tim nhĩ

cũng như trong cơ tâm thất phải. Định lượng BNP trong máu được sử dụng để sàng lọc, chẩn đoán và theo dõi suy tim.

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng dựa trên nguyên lý miễn dịch, theo phương pháp hóa phát quang (CLIA). Phản ứng diễn ra gồm 2 bước:

Bước một: Mẫu bệnh phẩm được ủ với thuốc thử có kháng thể -BNP được bao phủ bởi các vi hạt từ tính. BNP có trong mẫu bệnh phẩm sẽ kết hợp với kháng thể có bao phủ các hạt từ tính tạo thành phức hợp.

Bước hai: sau giai đoạn rửa, kháng thể -BNP đã được gắn với acridium lại tiếp xúc và gắn với phức hợp trên tạo thành phản ứng trong bước hai. Tiếp đến là giai đoạn rửa 2 sau đó các dung dịch tiền kích hoạt và kích hoạt được thêm vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả phản ứng phát quang xảy ra, cường độ ánh sáng thu được tỷ lệ với nồng độ BNP có trong mẫu bệnh phẩm. Cường độ ánh sáng được xác định bởi hệ thống nhân quang.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

01 Cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 kỹ thuật viên

2. Phương tiện, hóa chất

2.1 Phương tiện

Hệ thống máy phân tích miễn dịch: ARCHITECT và một số máy khác

2.2 Hóa chất

Các hóa chất cần thiết bao gồm:

MICROPARTICLE: Gồm có 1 hoặc 4 lọ 6.6 mL cho 100 test. Lọ 27.0 mL cho 500 test. Anti-BNP (Mouse, Monoclonal) bao phủ các vi hạt trong dung dịch đệm TRIS với protein có độ ổn định cao và chất bảo quản

CONJUGATE: 1 hoặc 4 lọ chứa 5.9 mL đủ cho phân tích 100 mẫu. Lọ chứa 26.3 mL đủ cho phân tích 500 mẫu, kháng thể BNP

Acridinium đánh dấu được gắn với protein trong dung dịch đệm MES có độ ổn định cao. Nồng độ tối thiểu: 0.1 μ g/mL và chất bảo quản

SPECMEN DILUENT: 1 hoặc 4 lọ chứa 6.6 mL có thể đủ phân tích 100 test Lọ 27 mL đủ cung cấp cho 500 test. Dung dịch pha loãng mẫu có chứa đệm TRIS có độ ổn định cao và chất bảo quản

PRE-TRIGGER SOLUTION có chứa 1.32% hydrogen peroxide.

TRIGGER SOLUTION: có chứa 0.35N sodium hydroxide.

WASH BUFFER: Gồm có phosphate buffered saline solution và chất bảo quản; antimicrobial agents Wash Buffer containing phosphate buffered saline solution và chất bảo quản

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay, dây garô
- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh về mục đích của xét nghiệm
Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng

4. Phiếu xét nghiệm

Có chỉ định của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu yêu cầu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Tiến hành phân tích trên mẫu máu, có thể dùng: Huyết thanh hoặc Huyết tương: dùng chất chống đông Li-heparin, EDTA

Nên sử dụng ống nghiệm đựng mẫu là plastic

Tính ổn định của mẫu: huyết thanh, huyết tương có thể ổn định:

24 giờ/nhiệt độ 2-25°C; 3 tháng/ nhiệt độ -20°C; Nếu > 3 tháng – 70°C

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level: 1, 2 và 3. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và vận hành máy theo protocol.

Máy sẽ tiến hành phân tích

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo: (theo Abbott Park, IL 60064 USA September 2005)

| | | | | | | |
|------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|-------------|
| Nhóm tuổi | | < 45 | 45 - 54 | 55 - 64 | 65 - 74 | ≥ 75 |
|------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|-------------|

| | | | | | | |
|-----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| N | 890 | 205 | 146 | 171 | 248 | 120 |
| Mean (pg/mL) | 39 | 28 | 21 | 37 | 47 | 63 |
| SD | 66 | 36 | 30 | 48 | 80 | 109 |
| Median | 21 | 17 | 9 | 24 | 23 | 31 |
| 95th percentile | 135 | 85 | 87 | 119 | 160 | 254 |

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:

Khi nồng độ Triglycerid > 33,87 mmol/L (3000 mg/dL); Hemoglobin > 500 mg/dL; Bilirubin > 20 mg/dL

- Xử trí:

Xử trí: Khi lấy mẫu và chuẩn bị mẫu tránh vỡ hồng cầu, mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại và lấy lại mẫu máu khác.

29. ĐỊNH LƯỢNG CALCI TOÀN PHẦN

I. NGUYÊN LÝ

Calcium là nguyên tố khoáng chiếm tỷ lệ cao nhất trong cơ thể. 90% calcium ở xương. Phần còn lại phân bố ở các mô khác nhau và dịch ngoại bào. Calcium có vai trò quan trọng trong quá trình đông máu, duy trì tính thấm của màng tế bào, dẫn truyền thần kinh cơ ...

Calcium máu được định lượng theo phương pháp so màu

pH kiềm

Ca^{2+} + o-cresolphtalein complexone \longrightarrow phức hợp calcium - CPC

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: CAPS, NaOH ...

R 2: o-CPC...

Bảo quản ở 15-25⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 12 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích 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 người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng Li-heparin. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 3 tuần, ở - 20⁰C được 8 tháng. Rã đông một lần.

Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành XN.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: 2.15-2.55 mmol/l
- Ca máu tăng trong:
 - Cường cận giáp.
 - Dùng nhiều Vitamin D.
 - Đa u tuỷ xương.
 - Bệnh Addison.
 - Ung thư (xương, vú, phế quản...).
- Ca máu giảm trong:
 - Nhược cận giáp.
 - Thiếu Vitamin D.
 - Viêm thận, thận hư.
 - Viêm tụy
 - Còi xương.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|---|------------------------------|-----------------------|
| Bệnh phẩm chống đông bằng EDTA | Làm giảm kết quả | Không sử dụng mẫu này |
| Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc | Kết quả ảnh hưởng không rõ | |
| Nồng độ > dải đo (0,1-5 mmol/L) | Sai lệch kết quả. Rất ít gặp | Pha loãng bệnh phẩm |

30. ĐỊNH LƯỢNG CANXI ION HÓA

(Phương pháp tính toán)

I. NGUYÊN LÝ

Canxi ion hóa được tính toán dựa trên các thông số định lượng của Canxi máu toàn phần và protein máu toàn phần.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C 501, AU 640, AU 2700, Hitachi 707, 902...

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Canxi và protein toàn phần, chất chuẩn Canxi và protein toàn phần, chất kiểm tra chất lượng Canxi và protein toàn phần.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, người bệnh cần được chuẩn bị nhịn ăn ít nhất 10 h trước khi lấy máu, người bệnh tránh căng thẳng mắt ngủ trước ngày lấy máu...

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là NH₄Li, Na-Heparin không sử dụng EDTA, Citrat, Oxalate cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.
- Kết quả có thể được máy tự động tính toán nếu máy được cài đặt công thức tính toán. Ngoài ra có thể tính toán theo công thức:

Canxi ion hóa = Canxi toàn phần – (Protein toàn phần × 0.017)

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường : 1.17 – 1.29 mmol/l
- Dùng chỉ số Canxi ion hóa để đánh giá tình trạng bệnh lý của cơ thể chính xác hơn sử dụng Canxi toàn phần bởi chính phần canxi ion hóa này mới là phần canxi lưu hành có tác dụng sinh học và được điều hòa bởi các hormone của cơ thể.
 - + Ca ion máu tăng trong: Cường cận giáp, Dùng nhiều Vitamin D, Đa u tuỷ xương, Bệnh Addison, Ung thư (xương, vú, phế quản...).
 - + Ca ion máu giảm trong: Nhược cận giáp, Thiếu Vitamin D, Viêm thận, thận hư, Viêm tụy, Còi xương.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những sai sót và xử trí là những sai sót và xử trí có thể gặp phải khi định lượng Canxi và protein máu toàn phần.

31. ĐỊNH LƯỢNG CANXI ION HÓA

(Phương pháp điện cực chọn lọc)

I. NGUYÊN LÝ

Canxi ion hóa được định lượng theo nguyên lý điện cực chọn lọc. Tại điện cực Ca^{++} có một màng bán thấm chỉ cho ion Ca^{++} đi qua. Căn cứ vào lượng Ca^{++} thấm qua màng (thông qua sự thay đổi điện thế ở màng) để xác định nồng độ của nó.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm chất điện giải có vị trí gắn điện cực Ca^{++} ...

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Ca^{++} ion, chất chuẩn Ca^{++} ion, chất kiểm tra chất lượng Ca^{++} ion.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, người bệnh cần được chuẩn bị nhịn ăn ít nhất 10 giờ trước khi lấy máu, người bệnh tránh căng thẳng mắt ngủ trước ngày lấy máu...

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là NH_4 , Li, Na-Heparin không sử dụng EDTA, Citrat, Oxalate cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Ca^{++} . Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Ca^{++} đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường : $> 1.17-1.29$ mmol/l
- Dùng chỉ số Canxi ion hóa để đánh giá tình trạng bệnh lý của cơ thể chính xác hơn sử dụng Canxi toàn phần bởi chính phần canxi ion hóa này mới là phần canxi lưu hành có tác dụng sinh học và được điều hòa bởi các hormone của cơ thể.
 - + Ca ion máu tăng trong: Cường cận giáp, Dùng nhiều Vitamin D, Đa u tuỷ xương, Bệnh Addison, Ung thư (xương, vú, phế quản...).
 - + Ca ion máu giảm trong: Nhược cận giáp, Thiếu Vitamin D, Viêm thận, thận hư, Viêm tụy, Còi xương.

32. ĐỊNH LƯỢNG CA 125 (Cancer antigen 125)

Kháng nguyên ung thư 125 (CA-125) là một protein hiện diện trên bề mặt của hầu hết các tế bào ung thư buồng trứng. Một lượng nhỏ CA-125 được sản xuất bởi các mô bình thường khắp cơ thể và một số bệnh ung thư khác. CA 125 có thể tăng cao ít mà không phải do ung thư như mang thai, kinh nguyệt và bệnh viêm vùng chậu. Xét nghiệm CA 125 thường được chỉ định trong ung thư buồng trứng.

I. NGUYÊN LÝ

CA 125 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. CA 125 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 125 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 125 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ CA 125 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CA 125, chất chuẩn CA 125, chất kiểm tra chất lượng CA 125.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không dùng Biotin trước khi lấy máu 8 tiếng.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH₄-Heparin và K₃-EDTA và Sodium Citrat. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 5 ngày ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CA 125. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CA 125. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CA 125 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 35 U/ml.
- CA 125 máu tăng trong: CA 125 tăng cao trong ung thư buồng trứng, nội mạc tử cung, vú... và có giá trị nhất trong việc chẩn đoán ung thư buồng trứng; CA 125 còn tăng trong một số bệnh lành tính như viêm nội mạc, viêm phần phụ, viêm tụy xơ gan.
- CA 125 máu giảm trong: Sự giảm nồng độ CA 125 cũng có giá trị theo dõi hiệu quả của phương pháp điều trị, sự tăng trở lại báo hiệu bệnh tái phát

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL .
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 3.2 g/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.
 - + Biotin < 35 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
 - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CA 125 tới 50 000 U/mL

+ RF <1200 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).

33. ĐỊNH LƯỢNG CA 19-9 (Carbonhydrat antigen 19-9)

I. NGUYÊN LÝ

Kháng nguyên ung thư 19-9 (CA 19-9) là một glycoprotein được sản xuất bởi các tế bào của khối u, tồn tại trên bề mặt của tế bào ung thư nhất định. Do đó, nó như dấu ấn khối u để theo dõi diễn tiến của ung thư. Xét nghiệm CA 19-9 thường được sử dụng trong chẩn đoán và theo dõi điều trị ung thư tụy, dạ dày, đường mật, đại tràng và có giá trị nhất trong việc chẩn đoán ung thư tụy.

CA 19-9 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. CA 19-9 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 19-9 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 19-9 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ CA 19-9 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CA 19-9, chất chuẩn CA 19-9, chất kiểm tra chất lượng CA 19-9.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không dùng Biotin trước khi lấy máu 8 tiếng

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH₄-Heparin và K₃-EDTA. Không sử dụng chất chống đông Sodium Citrat cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 1 tháng ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CA 19-9. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CA 19-9. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CA 19-9 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: <39 U/ml.
- CA 19-9 máu tăng trong: CA 19-9 tăng cao trong ung thư tụy, dạ dày, đường mật, đại tràng và có giá trị nhất trong việc chẩn đoán ung thư tụy. CA 19-9 phối hợp với CEA và CA 72-4 làm tăng giá trị khi chẩn đoán ung thư dạ dày. CA 19-9 còn tăng nhất thời và không cao trong bệnh xơ gan, hoại tử tế bào gan, viêm đường mật, viêm tụy cấp và mạn
- CA 19-9 máu giảm trong: Sự giảm nồng độ CA 19-9 cũng có giá trị theo dõi hiệu quả của phương pháp điều trị, khi được điều trị CA 19-9 giảm nhanh hơn CEA.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng nhầm chất chống đông (Không sử dụng chất chống đông Sodium Citrat cho xét nghiệm này). Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.
- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 2.2 g/dl.

- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.
- + Biotin <100 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
- + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CA 19-9 tới 500 000 U/mL
- + 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).

34. QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG CA 15-3 (Cancer antigen 15-3)

Kháng nguyên ung thư 15-3 (CA 15-3) là một protein được sản xuất bởi các tế bào vú bình thường. Ở nhiều người bệnh ung thư vú CA 15-3 tăng. Xét nghiệm CA 15-3 thường được chỉ định trong chẩn đoán ung thư vú, phổi, buồng trứng, tiền liệt tuyến... và có giá trị nhất trong việc chẩn đoán ung thư vú. Định lượng CA 15-3 còn được dùng để theo dõi trong quá trình điều trị ung thư.

I. NGUYÊN LÝ

CA 15-3 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. CA 15-3 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 15-3 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 15-3 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ CA15-3 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CA 15-3 , chất chuẩn CA 15-3 , chất kiểm tra chất lượng CA 15-3 .

3. Người bệnh: Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không dùng Biotin trước khi lấy máu 8 tiếng.

4. Phiếu xét nghiệm: Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH₄-Heparin và K₃-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 5 ngày ở 2–8°C, 1 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CA 15-3. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CA 15-3. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CA 15-3 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

-Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 25 U/ml.

- CA 15-3 máu tăng trong: CA 15-3 tăng cao trong ung thư vú, phổi, buồng trứng, tiền liệt tuyến... và có giá trị nhất trong việc chẩn đoán ung thư vú. CA 15-3 phối hợp với CEA làm tăng giá trị khi chẩn đoán ung thư vú. CA 15-3 còn tăng nhẹ trong bệnh xơ gan, viêm gan, bệnh vú lành tính. CA 15-3 phối hợp với CEA và CA 72-4 làm tăng giá khi chẩn đoán

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin <3.0 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin <100 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CA 15-3 tới 20 000 U/mL

+ 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).

35. ĐỊNH LƯỢNG CA 72-4 (Cancer antigen 72- 4)

CA 72-4 còn gọi là TAG 72 (Tumor Associated Glycoprotein 72, glycoprotein liên kết ung thư 72). CA 72-4 là glycoprotein type mucin, trọng lượng phân tử 220 – 1.000 dalton. Xét nghiệm CA 72-4 thường được chỉ định trong ung thư dạ dày, buồng trứng, phế quản... và theo dõi trong quá trình điều trị.

I. NGUYÊN LÝ

CA 72-4 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. CA 72-4 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 72-4 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 72-4 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ CA 72-4 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CA 72-4 , chất chuẩn CA 72-4 , chất kiểm tra chất lượng CA 72-4.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không dùng Biotin trước khi lấy máu 8 tiếng.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH₄-Heparin và K₃-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 30 ngày ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CA 72-4. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CA 72-4. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CA 72-4 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

-Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: <6.9 U/ml.

- CA 72-4 máu tăng trong: CA 72-4 tăng cao trong ung thư dạ dày, buồng trứng và một số khối u di căn khác. CA 72-4 phối hợp với CEA làm tăng giá trị khi chẩn đoán ung thư dạ dày.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 2.2 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin <60 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8 giờ sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CA 72-4 tới 15 000 U/mL.

+ 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).

36. ĐỊNH LƯỢNG CALCITONIN

Calcitonin còn gọi là thyrocalcitonin là một protein hormon có chứa 32 axit amin được tổng hợp trong cơ thể người và động vật có vú khác bởi các tế bào parafollicular (tế bào C) trong tuyến giáp. Cùng với hormon của tuyến cận giáp (parathormone), calcitonin tham gia vào các quá trình điều hòa nồng độ canxi trong máu. Calcitonin tác dụng làm giảm nồng độ canxi huyết bằng cách ức chế hoạt động của các hủy cốt bào trong mô xương và tăng bài tiết canxi trong nước tiểu. Việc định lượng calcitonin giúp ích trong chẩn đoán và theo dõi tái phát hay di căn của ung thư tuyến giáp thể tủy hoặc ung thư tế bào C. Ngoài ra có thể tiến hành kiểm tra định kỳ nồng độ calcitonin trong máu ở những người mà trong gia đình có thành viên ung thư tế bào C.

I. NGUYÊN LÝ

Theo nguyên lý miễn dịch kiểu sandwich, phương pháp hóa phát quang (CLIA).

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 kỹ thuật viên.

2. **Phương tiện, hóa chất**

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: immulite 2000 và một số máy miễn dịch khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, ống sample cup
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

Các hóa chất cần thiết cho phân tích trên máy immulite 2000 gồm:

- Multi-Diluent 2 (L2M2Z, L2M2Z4): dùng để pha loãng mẫu bệnh phẩm. Có thể sử dụng ngay, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày sau khi mở nắp. Ổn định trong vòng 6 tháng / nhiệt độ 2–8°C .
- L2M2Z: 25 mL L2M2Z4: 55 mL có dán mã vạch để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng cần dán một nhãn thích hợp lên ống nghiệm kích thước 16 × 100 mm để máy có thể đọc được.
- L2M2Z: 3 labels L2M2Z4: có 5 nhãn

- L2SUBM: Chemiluminescent Substrate
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu Probe
- L2KPM: Dung dịch làm sạch đầu Probe
- LRXT: Tube phản ứng (disposable)
- LCLCM: Bi-level, protein/buffer-based control module.

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay, dây garô
- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm.
Cần nhịn ăn 12giờ tính đến thời điểm lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Phân tích trên mẫu máu, có thể dùng: Huyết thanh; Huyết tương: chất chống đông Li-heparin.

Tính ổn định của mẫu: có thể ổn định 15 ngày/ nhiệt độ (-20°C), lâu hơn/ nhiệt độ (-70°C).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu.

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2giờ

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và máy sẽ tự động phân tích

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- **Trị số tham khảo:**

Theo nghiên cứu từ 120 nam và 90 nữ trên máy immulite 200 cho thấy(5- 95% bách phân vị) có trị số median:

Nam: 8,4 pg/mL (2,46 pmol/L)

Nữ: 5,0 pg/mL (1,46 pmol/L)

Hệ số chuyển đổi: pg/mL x 0,2926= pmol/L

- **Tăng nồng độ Calcitonin:**
 - + Ung thư tuyến giáp thể vùi
 - + Tăng sản tuyến cận giáp
 - + Tăng canxi máu
 - + Tăng sản tế bào C của tuyến giáp
 - + Xơ gan do rượu
 - + Ung thư vú
 - + Sản xuất calcitonin lạc chỗ

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- **Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả khi:**

Bilirubin > 200 mg/dL

Hemoglobin > 512 mg/dL

Triglycerid > 33,87 mmol/L (3000 mg/dL)

Người bệnh đang dùng thuốc canxi, adrenalin, glucagon, thuốc tránh thai có thể làm tăng nồng độ calcitonin.

- **Xử trí:** Nhắc người bệnh nhịn ăn 12giờ tính đến thời điểm lấy máu.
Máu vỡ hồng cầu nên loại, lấy mẫu máu khác.

37. ĐỊNH LƯỢNG CARBAMAZEPIN

I. NGUYÊN LÝ

Carbamazepin là thuốc hướng thần có tác dụng chống động kinh.

Carbamazepin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Carbamazepine là xét nghiệm một bước để định lượng carbamazepine trong huyết thanh hoặc huyết tương.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng carbamazepine trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Carbamazepin, chất chuẩn Carbamazepin, chất kiểm tra chất lượng Carbamazepin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Sodium EDTA (dùng cho ống nhựa). Nếu lấy máu bằng ống thủy tinh, có thể dùng các chất chống đông Li, Na-Heparin và K2-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ở 15 - 25°C, 7 ngày ở 2-8°C, bảo quản lâu hơn ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Kết quả được xác định bằng các phương pháp khác nhau sẽ có nồng độ gây độc khác nhau. Do vậy không nên dùng các phương pháp khác nhau khi xét nghiệm cho 1 người bệnh.

- Liều điều trị thường có nồng độ ở mức 4-12 $\mu\text{g/mL}$. Tuy nhiên nồng độ này còn phụ thuộc vào từng cá thể.

- Nồng độ Carbamazepin cao gây ngộ độc chủ yếu là uể oải, chóng mặt, nhìn đôi, hiếm gặp là thiếu máu bất sản.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 20 mg/dL .

- Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dl.

- Huyết thanh đục: Triglyceride < 3000 mg/dl.

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).

38. ĐỊNH LƯỢNG CERULOPLASMIN

Ceruloplasmin là một protein có chứa đồng, đóng một vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hoá đồng của cơ thể. Tại gan đồng liên kết với apoceruloplasmin tạo thành ceruloplasmin và sau đó phóng thích nó vào máu. Khoảng 95% đồng trong máu gắn với ceruloplasmin. Xét nghiệm ceruloplasmin thường được sử dụng trong chẩn đoán bệnh Wilson và đánh giá quá trình chuyển hoá đồng.

I. NGUYÊN LÝ

Ceruloplasmin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng Ceruloplasmin trong thuốc thử kết hợp với Ceruloplasmin trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ Ceruloplasmin có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Ceruloplasmin, chất chuẩn Ceruloplasmin, chất kiểm tra chất lượng Ceruloplasmin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-heparin hay Na-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 3 ngày ở 2-8°C, 4 tuần ở (-15)–(-25)°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 20 - 60 mg/dl

- Ceruloplasmin máu tăng trong: Có thai, dùng thuốc ngừa thai, Viêm gan, xơ gan, Ung thư (xương, dạ dày, phổi).

- Ceruloplasmin máu giảm trong: Bệnh Willson, Bệnh Menkes

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL hoặc 621 μ mol/L.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1600 mg/dL (18.2 mmol/L).

+ Yếu tố dạng thấp: < 76 IU/mL.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ ceruloplasmin tới 500 mg/dL (37.3 μ mol/L).

- 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).

39. ĐỊNH LƯỢNG CEA (Carcinoembryonic antigen)

I. NGUYÊN LÝ

CEA được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. CEA có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CEA đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CEA đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ CEA có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CEA, chất chuẩn CEA, chất kiểm tra chất lượng CEA.

3. Người bệnh: Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không dùng Biotin trước khi lấy máu 8 tiếng.

4. Phiếu xét nghiệm: Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Na-Heparin và K3-EDTA. Sử dụng chất chống đông Sodium Citrat và Sodium Heparin kết quả phải cộng thêm 10%. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CEA. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CEA. Kết quả

kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CEA đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường:

Người không hút thuốc lá : < 3.4 ng/mL

Người hút thuốc lá : < 4.3 ng/mL

- CEA máu tăng trong: Tăng cao trong ung thư đường tiêu hóa nhất là ung thư đại trực tràng. Ngoài ra còn tăng cao trong các ung thư như vú, phổi, buồng trứng...CEA còn có thể tăng nhẹ trong một số trường hợp như xơ gan, viêm tụy...
- CEA máu giảm trong: Sự giảm nồng độ CEA cũng có giá trị theo dõi hiệu quả của phương pháp điều trị.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL .
- + Tán huyết: Hemoglobin <2.2 g/dl.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
- + Biotin <120 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8giờ sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
- + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CEA tới 200 000 ng/mL.

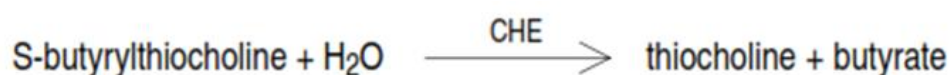
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

40. ĐO HOẠT ĐỘ CHOLINESTERASE (EC 3.1.1.8)

Cholinesterase (ChE) được tìm thấy trong gan, tụy, tim, huyết tương và chất trắng của não, còn gọi là cholinesterase “giả” để phân biệt với Cholinesterase EC 3.1.1.7 “thật” có nguồn gốc trong hồng cầu. Trong thực tế lâm sàng có thể sử dụng Cholinesterase EC 3.1.1.8 như một chỉ điểm sinh học trong theo dõi, sàng lọc các trường hợp ngộ độc thuốc trừ sâu (đặc biệt nhóm phospho hữu cơ và carbamat), theo dõi chức năng gan như: viêm gan, xơ gan,..

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng hoạt độ của ChE dựa trên các phản ứng sau:



Mức độ hình thành 2-nitro-5-mercaptobenzoate tỷ lệ thuận với hoạt độ của ChE tham gia trong phản ứng. Có thể xác định được bằng phép đo quang

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

2. **Phương tiện**

2.1 *Phương tiện*

- Các máy phân tích Hóa sinh bán tự động
- Các máy Hóa sinh tự động: Hitachi 904, 911, 912, 917, cobas 6000, 8000, modular, AU 400, 480, 640, 680, 2700, 5800 và một số máy khác.
- Máy ly tâm
- Ống nghiệm
- Pipet các loại
- Đầu côn xanh, vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2 *Hóa chất*

- Thuốc thử 1 (R1) Đệm pyrophosphate: 92 mmol/L; pH; 7,7; potassium hexacyanoferrate (III): 2.4 mmol/L)

- Thuốc thử 2 (R2) GOOD's buffer: 10 mmol/L, pH 4.0, butyrylthiocholine 46 mmol/L, stabilizers.

- Thuốc thử ổn định cho đến hạn ghi trên hộp khi bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C.

Khi mở nắp có thể ổn định trên khay lạnh đựng hoá chất của máy khoảng 28 ngày/khi không tắt máy.

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm

- Găng tay

- Bông, cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm để người bệnh hợp tác trong quá trình lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Tiến hành phân tích trên mẫu máu, có thể dùng:

Huyết thanh

Huyết tương: chất chống đông Li-Heparin, EDTA

Tính ổn định của mẫu: Mẫu có thể ổn định 6h / nhiệt độ 15-25°C; 7 ngày/ nhiệt độ 2-8°C; 6 tháng/ nhiệt độ (-70°C).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Chuẩn máy bằng dung dịch chuẩn (một hoặc nhiều chuẩn =multical)

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

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); lựa chọn test và thao tác theo protocol máy sẽ tự động phân tích.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ *Trị số tham khảo:*

- Trẻ em, nam giới, nữ giới độ tuổi 40: 5300-12900 U/L (88,8 - 215,3 μ kat/L).
- Phụ nữ độ tuổi từ 16-39 tuổi không có thai, không dùng thuốc tránh thai dạng hormon: 4260 - 11250 U/L (71 - 187.5 μ kat/L).
- Phụ nữ độ tuổi từ 18- 41 tuổi có thai, dùng thuốc tránh thai: 3650 - 9120 U/L (60.8 - 152 μ kat/L).

+Hoạt độ ChE giảm:

- Ngộ độc thuốc trừ sâu nhóm phospho hữu cơ, nhóm carbamat
- Nhiễm trùng cấp, thiếu máu, xơ gan vàng da
- Tăng bạch cầu đa nhân, ung thư di căn, lao, Hội chứng ure máu cao

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi:

- + Bilirubin >1026 μ mol/L (60mg/dL)
- + Hemoglobin > 528 μ mol/L (850 mg/dL)
- + Một số thuốc làm giảm hoạt độ ChE: cafein, morphin, atropin, acid folic, thuốc tránh thai.
- Xử trí: khi lấy mẫu máu tránh gây vỡ hồng cầu, sau ly tâm thấy vỡ hồng cầu nên loại và lấy lại mẫu máu khác.

41. ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN

I. NGUYÊN LÝ

Cholesterol toàn phần được tổng hợp ở nhiều mô khác nhau nhưng chủ yếu là ở gan và tế bào thành ruột. Nó được sử dụng để phát hiện nguy cơ vữa xơ động mạch và để chẩn đoán và theo dõi điều trị các bệnh có liên quan đến nồng độ cholesterol cũng như các rối loạn chuyển hóa lipid hay lipoprotein

Cholesterol toàn phần trong máu được định lượng theo phương pháp enzym so màu



CE: Cholesterolesterase

CHOD: Cholesterol oxidase

POP: Peroxidas

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. **Phương tiện, hóa chất**

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: buffer, 4AAP, cholesterolester, POD, cholesterol oxydase ...

Bảo quản ở 2-8⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 4 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

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

4. **Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng Li-heparin. Không sử dụng citrate, oxalate, fluorid. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 7 ngày, ở - 20⁰C được 3 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: 3.9 - 5.2 mmol/l

- Cholesterol máu tăng trong:

- Vàng da tắc mật
- Rối loạn chuyển hoá lipid
- Tiểu đường, tăng huyết áp.
- Viêm thận, hội chứng thận hư
- Nhược giáp

- Cholesterol máu giảm trong:

- Cường giáp
- Hội chứng Cushing
- Nhiễm trùng cấp
- Thiếu máu

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

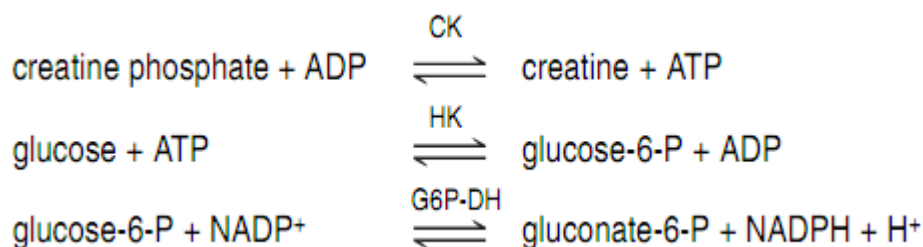
| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|---|----------------------------|---------------------|
| Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, đang sử dụng thuốc | Kết quả ảnh hưởng không rõ | |
| Nồng độ > dải đo (0,1-20,7 mmol/L) | Sai lệch kết quả. | Pha loãng bệnh phẩm |

42. ĐỊNH LƯỢNG CREATINE KINASE (CK)

I. NGUYÊN LÝ

CK còn gọi là Creatin Phosphokinase, là một Enzym đóng vai trò quan trọng trong cung cấp năng lượng cho các mô khác nhau trong cơ thể, đặc biệt là mô cơ. CK có mặt chủ yếu ở cơ tim, cơ vân và một lượng ít ở tổ chức não. Bệnh lý xuất hiện ở các cơ quan trên đều có thể gây tăng hoạt độ CK toàn phần.

Định lượng hoạt độ enzym theo động học enzym (kinetic)



Lượng NADPH và ATP được hình thành ở mức tương đương. Hoạt độ CK được đo bằng tốc độ hình thành NADPH tại bước sóng vùng tử ngoại (340 nm), theo thời gian.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và một kỹ thuật viên
2. **Phương tiện, hóa chất**

2.1. Trang thiết bị

- Các máy phân tích Hóa sinh bán tự động
- Các máy Hóa sinh tự động: Hitachi 904, 911, 912, 917, cobas 6000, 8000, modular, AU 400, 480, 640, 680, 2700, 5800 và một số máy khác.
- Máy ly tâm
- Ống nghiệm
- Pipet các loại
- Đầu côn xanh, vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

Tùy theo trang thiết bị hiện có, có hóa chất thích hợp

Thuốc thử 1: Gồm đệm Imidazole: 123 mmol/L, pH 6.5 (37°C); EDTA: 2.46 mmol/L; Mg^{2+} : 12.3 mmol/L; ADP: 2.46 mmol/L; AMP: 6.14 mmol/L; diadenosine

pentaphosphate: 19 $\mu\text{mol/L}$; NADP (yeast): 2.46 mmol/L; N-acetylcysteine: 24.6 mmol/L; HK (yeast): $\geq 36.7 \mu\text{kat/L}$; G6P-DH (E. coli): $\geq 23.4 \mu\text{kat/L}$; preservative; stabilizer; additive.

Thuốc thử 2: đệm CAPSO*: 20 mmol/L, pH 8.8 (37°C); glucose: 120 mmol/L; EDTA: 2.46 mmol/L; creatine phosphate: 184 mmol/L; Chất bảo quản

*CAPSO: 3-(cyclohexylamino)-2-hydroxy-1-propanesulfonic acid

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay
- Bông , cồn sát trùng
- Bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

- Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh mục đích của xét nghiệm này.
- Tránh vận động, luyện tập cường độ cao trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm có thể dùng : huyết thanh, huyết tương (chống đông Lithium heparin)

Khi lấy máu bằng bơm tiêm phải tháo kim trước khi chuyển máu vào ống nghiệm, nhẹ tay tránh gây vỡ hồng cầu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Chuẩn máy bằng dung dịch chuẩn (một hoặc nhiều chuẩn =multical)

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

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); lựa chọn test và vận hành theo protocol của máy

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo:

Nam: 38-174 U/L-37⁰C

Nữ: 26 - 140 U/L- 37⁰C

Hệ số chuyển đổi:

$$U/L \times 0.0167 = \mu\text{kat/L}$$

Hoạt độ CK (CPK) toàn phần tăng:

- Bệnh tai biến mạch não cấp
- Nhồi máu cơ tim
- Chấn thương não, đụng giập cơ
- Sau phẫu thuật tim
- Viêm da và cơ; Viêm cơ, Tiêu cơ vân
- Nhồi máu phổi

Hoạt độ CK (CPK) toàn phần giảm:

- Bệnh addison
- Giảm khối lượng cơ
- Bệnh lý gan
- Giảm tiết của thùy trước tuyến yên

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Các yếu tố | Hậu quả | Xử trí |
|---|-----------------|--|
| Mẫu máu bị vỡ hồng cầu | Tăng hoạt độ CK | Tránh vỡ hồng cầu, mẫu bị huyết tán cần được loại bỏ và lấy mẫu máu khác |
| Sau các thủ thuật: tiêm truyền nhiều lần trong ngày, thông tim, chấn thương cơ, sau luyện tập cường độ cao | Tăng hoạt độ CK | Chú ý khi biện luận, nhận định kết quả |
| Đang sử dụng thuốc: Aphotericin B, ampicillin, thuốc chống đông, clofibrat, statin dexamethason, thuốc gây mê | Tăng hoạt độ CK | Chú ý khi biện luận, nhận định kết quả |
| hoạt động thể lực cường độ cao | Tăng hoạt độ CK | Nhắc nhở người bệnh không tập luyện, hoạt động thể lực cường độ cao |

43. ĐO HOẠT ĐỘ ISOENZYM CK-MB

I. NGUYÊN LÝ

CK được cấu tạo bởi 2 tiểu đơn vị là B (Brain - não) và M (Cơ - Muscle) tùy theo sự tổ hợp của 2 loại B và M mà tạo nên 3 dạng isozyme của CK là CK-MM, CK-MB và CK-BB tức CK não. CK-BB do không qua được hàng rào máu não nên trong huyết thanh nó chỉ ở dạng vết. CK-MB có nhiều ở tim, trong huyết thanh chiếm tỷ lệ <6%. Xét nghiệm CK-MB thường chỉ định trong bệnh tim mạch đặc biệt là nhồi máu cơ tim.

Hoạt độ của enzym CK-MB trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp ức chế miễn dịch và động học enzym.

CK-MB bao gồm 2 tiểu phần là CK-M và CK-B. Trường hợp này để xác định hoạt độ CK-MB, tiểu phần CK-M bị ức chế bằng kháng thể kháng CK-M. Lúc này chỉ xác định hoạt độ của tiểu phần CK-B theo phản ứng như xác định hoạt độ CPK toàn phần. Hoạt độ của CK-MB là hoạt độ của CK-B được nhân 2.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CK-MB, chất chuẩn CK-MB, chất kiểm tra chất lượng CK-MB.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH₄-Heparin hoặc EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm là huyết thanh ổn định 8 giờ ở 2-8°C, 8 ngày ở 15°C đến 25°C, 4 tuần ở -15°C đến -25°C. Bệnh phẩm là huyết tương Heparin ổn định 8 giờ ở 2-8°C, 5 ngày ở 15°C đến 25°C, 8 tuần ở -15°C đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CK-MB. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CK-MB. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CK-MB đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 24 U/L
- CK-MB máu tăng trong: Nhồi máu cơ tim cấp. Người ta thường tính tỷ lệ CK-MB/CK toàn phần, nếu >6% thì ủng hộ cho chẩn đoán nhồi máu cơ tim.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 20 mg/dL
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 600 mg/dL .
- 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 kết quả).

44. ĐỊNH LƯỢNG CK-MB MASS

I. NGUYÊN LÝ

Theo nguyên lý miễn dịch kiểu Sandwich. Theo phương pháp điện hóa phát quang (ECLIA). Thời gian của phản ứng 18 phút.

- Giai đoạn ủ thứ nhất: gồm bệnh phẩm (huyết thanh, huyết tương), một kháng thể đơn dòng kháng CK-MB đã gắn với biotin và một kháng thể đơn dòng đặc hiệu với CK-MB được gắn với phức hợp ruthenium* để tạo thành phức hợp kiểu sandwich.

- Giai đoạn ủ thứ hai: Sau khi cho thêm các vi hạt đã được bao phủ bởi streptavidin phức hợp được gắn vào pha rắn do sự tương tác giữa biotin và streptavidin.

+ Phức hợp phản ứng được đưa vào buồng đo. Tại đây các vi hạt (microparticles) được giữ lại bằng từ tính trên bề mặt điện cực. Những chất thừa được rửa đi bằng procell. Dùng dòng điện một chiều (2 vôn) tác động vào nhằm kích thích phát quang và cường độ tín hiệu ánh sáng phát ra có thể đo được bằng bộ phận nhân quang.

+ Kết quả được tính toán dựa vào đường cong chuẩn thu được bằng cách chuẩn 2 điểm và đường cong gốc được cung cấp từ nhà sản xuất. Nồng độ chất cần định lượng tỷ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh, miễn dịch và 01 kỹ thuật viên.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: Elecsys 1010, Elecsys 2010, modular analytics e 170, cobas e 411, cobas 6000, 8000 và một số máy khác.

- Máy ly tâm

- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm.

- Pipet các loại, ống sample cup

- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng

- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

Gồm 3 lọ thuốc thử

+ Lọ thứ nhất (M) - nắp màu trong, có chứa Streptavidin-coated microparticles thể tích 6.5 mL: Streptavidin-coated microparticles, 0.72 mg/mL, binding capacity: 470 ng biotin/mg microparticles; chất bảo quản.

+ Lọ thứ 2 (R1) - nắp màu ghi, có chứa Anti-CK-MB Ab~biotin thể tích 10 mL:

Biotinylated monoclonal anti-CK-MB antibodies (mouse) 1.2 mg/L; phosphate buffer 100 mmol/L, pH 7.0; chất bảo quản.

+ Lọ thứ ba (R2) - nắp màu đen có chứa Anti-CK-MB Ab~Ru(bpy) thể tích 10 ml: Monoclonal anti-CK-MB antibodies (mouse) labeled with ruthenium complex 1.2 mg/L;

phosphate buffer 100 mmol/L, pH 7.0; chất bảo quản.

+ Procell; Clean cell

+ Dung dịch chuẩn

+ Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm

- Găng tay

- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm.

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Phân tích trong máu, có thể dùng: Huyết thanh hoặc Huyết tương: chất chống đông: Lithium Heparin, citrat natri.

Mẫu nên tiến hành phân tích trong vòng 2giờ

Ổn định mẫu: 4 giờ/ nhiệt độ 18-23°C; 8 giờ/ nhiệt độ 2-8°C; 3 Tháng/ nhiệt độ -20°C

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm. Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test vận hành theo protocol máy sẽ tự động phân tích.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số tham khảo, dựa trên nghiên cứu sau: đơn vị ng/mL

| | N | Median | 97% bách phân vị | 99% bách phân vị |
|-----|-----|-------------|---------------------|---------------------|
| Nam | 628 | 0.97 | 2.88 | 3.77 |
| Nữ | 760 | 1.35 | 4.94 | 6.73 |

Theo FRISC II (Fragmin during instability in coronary artery disease) Study, results from Uppsala, January 1999)

- CKMB có thể tăng trong: nhồi máu cơ tim, viêm cơ tim, sau khử rung tim, suy tim ứ huyết, chấn thương tim,...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi: Nồng độ bilirubin > 34 mg/dL; Hemoglobin > 1,5 g/dL; Triglycerid > 1500 mg/dL; Biotin > 100 ng/mL

- Xử trí: Khi lấy mẫu tránh vỡ hồng cầu, chuẩn bị mẫu nếu mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại và lấy mẫu khác thay thế.

Người bệnh đang dùng biotin cần dừng thuốc ít nhất 8 giờ trước thời điểm lấy mẫu máu.

45. ĐỊNH LƯỢNG C-PEPTID

C-Peptide là một peptide gồm 31 acid amin, do tế bào beta của đảo tụy sản sinh từ proinsulin dưới tác dụng của enzym thủy phân là Protease theo phương trình sau:



Lượng peptide và insulin do tế bào beta sản xuất và bài tiết với lượng như nhau vào tuần hoàn máu. Tuy nhiên, do C-peptide được đào thải qua thận còn insulin được đào thải chủ yếu qua gan và cũng do thời gian bán hủy của C-peptide là khoảng 30 phút và của insulin là 5 phút nên nồng độ C-peptide trong máu thường cao hơn nồng độ insulin khoảng 5 lần. Việc định lượng C-peptide trong huyết tương có thể giúp đánh giá khả năng hoạt động của các tế bào beta của tụy nội tiết.

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng C-peptid dựa trên nguyên lý miễn dịch theo kiểu “sandwich”. Sử dụng phương pháp điện hóa phát quang (ECLIA). Tổng thời gian của phản ứng là 18 phút.

+ Lần ủ đầu tiên: Gồm mẫu bệnh phẩm (huyết thanh, huyết tương), 1 kháng thể đơn dòng đặc hiệu với c-peptid đã được gắn với biotin và 1 kháng thể đơn dòng đặc hiệu với c-peptid được gắn với phức hợp ruthenium để tạo thành phức hợp kiểu sandwich

+ Lần ủ thứ hai: sau khi cho thêm các vi hạt được bao phủ bởi streptavidin, phức hợp sẽ bám vào phase rắn qua phản ứng của biotin và streptavidin

+ Phức hợp phản ứng được đưa vào buồng đo. Tại đây các vi hạt (microparticles) được giữ lại bằng từ tính trên bề mặt điện cực. Những chất thừa được rửa đi bằng procell. Dùng một dòng điện tác động vào điện cực nhằm kích thích phát quang và cường độ tín hiệu ánh sáng phát ra có thể đo được bằng bộ phận nhân quang.

+ Kết quả được tính toán dựa vào đường cong chuẩn thu được bằng cách chuẩn 2 điểm và đường cong gốc được cung cấp từ nhà sản xuất. Nồng độ c-peptid tỷ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 kỹ thuật viên
2. **Phương tiện, hóa chất**
 - 2.1. **Phương tiện**

- Các máy có thể phân tích: Elecsys 1010, Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 411, cobas e 601 và một số máy khác

- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

+ Thuốc thử 1 (M)- nắp trong, có thể tích 6.5 mL: gồm các vi hạt được bao phủ Streptavidin 0.72 mg/mL; chất bảo quản.

+ Thuốc thử 2 (R1)- nắp màu ghi, có Anti- c-peptid -Ab~biotin, thể tích 9 mL: Biotinylated monoclonal anti- c-peptid antibody (mouse) 1 mg/L; đệm phosphat 50 mmol/L, pH 6.0; chất bảo quản.

+ Thuốc thử 3 (R2) nắp màu đen, có Anti- c-peptid -Ab³Ru(bpy), thể tích 9 mL: trong đó kháng thể kháng C-peptid được đánh dấu bởi phức hợp ruthenium: 0.4 mg/L; đệm phosphat: 50 mmol/L, pH 6.0; chất bảo quản.

+ Bảo quản thuốc thử: ở nhiệt độ 2- 8°C, có thể ổn định đến thời hạn ghi trên hộp. Thuốc thử sau khi mở nắp bảo quản được 12 tuần ở 2-8°C. Nếu để trên máy (không tắt máy) có thể được 4 tuần.

- + Procell; Clean cell
- + Dung dịch chuẩn
- + Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay, dây garo
- Bông, cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm
Người bệnh cần nhịn ăn 10 giờ tính đến thời điểm lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Có y lệnh của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Phân tích trên mẫu máu, có thể dùng: huyết thanh hoặc huyết tương: chất chống đông Li-heparin, EDTA

- Phân tích trên mẫu nước tiểu: cần lấy mẫu nước tiểu 24 giờ

Tính ổn định của mẫu: mẫu huyết thanh, huyết tương và nước tiểu 24 giờ có thể ổn định 4 giờ /nhiệt độ 15-25°C; 24 giờ / nhiệt độ 2-8°C; 30 ngày/nhiệt độ (-20°C)

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

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 người bệnh); chọn test và vận hành theo protocol của máy.

III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo: dựa trên nghiên cứu sau:

| | N | Median | 5 th -95 th percentile | Unit |
|---------------------------|----|--------|--|-----------|
| C-peptide in serum/plasma | 96 | 1.96 | 1.1-4.4 | ng/mL |
| | | 0.65 | 0.37-1.47 | nmol/L |
| C-peptide in 24 h urine | 79 | 54.8 | 17.2-181 | µg/24 h |
| | | 18.3 | 5.74-60.3 | nmol/24 h |

Hệ số chuyển đổi:

- ng/mL (µg/L) x 0,33333= nmol/L
- nmol/L x 3,0= ng/mL
- ng/mL x 333,33= pmol/L
- pmol/L x 0,003 = ng/mL

C- peptid tăng trong:

- Khối u insulin (Insulinoma)

- Sản xuất insulin nội sinh tăng: cơ thể đáp ứng với sự tăng glucose máu do ăn nhiều glucose hoặc do kháng insulin.

- Ghép tụy

C- peptid giảm trong: Đái tháo đường type 1, sau cắt tụy

IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi: Bilirubin > 855 $\mu\text{mol/L}$ (> 50mg/dL); Hemoglobin > 0,186 mmol/L (> 0,3 g/dL), Triglycerid > 22,58 mmol/L (2000mg/dL); biotin > 246 nmol/L (> 60ng/mL); Yếu tố dạng thấp > 1200IU/mL.

- Xử trí: Khi lấy mẫu máu người bệnh cần nhịn ăn 10h tính đến thời điểm lấy máu để phân tích.

46. ĐỊNH LƯỢNG CORTISOL

CORTISOL là hormon chủ yếu của nhóm glucocorticoid được tiết ra bởi vỏ thượng thận. Cortisol tham gia điều hòa chuyển hóa carbohydrate, phân bố nước và điện giải. Ngoài ra còn có tác dụng ức chế miễn dịch và kháng viêm.

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng CORTISOL bằng kỹ thuật miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm để định lượng Cortisol trong huyết thanh, huyết tương hay nước tiểu. Cortisol trong mẫu thử kết hợp với kháng thể kháng Cortisol được phủ trên vi hạt thuận từ theo phản ứng kết hợp kháng nguyên - kháng thể. Sau khi ủ, cortisol ghi dấu arcidinium cho thêm vào phản ứng, nó sẽ gắn kết cạnh tranh trên hỗn hợp kháng thể kháng cortisol đã phủ trên vi hạt thuận từ. Sau khi ủ lần hai vi hạt được rửa sạch, thêm dung dịch kích hoạt (Trigger) vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Hàm lượng Cortisol trong mẫu tương quan nghịch với RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân XN được đào tạo vận hành máy Architect

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy Architect ir1000
- Ống nghiệm (EDTA, sodium citrate), ống nghiệm không có chất chống đông, chai đựng nước tiểu, bơm tiêm 5ml, cồn sát trùng.

2.2. Hóa chất: Bộ thuốc thử 100 / 500 Test ARCHITECT Cortisol

- CÁC VI HẠT: 1 chai (6,6 mL chai 100 test/27,0 mL chai 500 test) Các vi hạt phủ kháng thể kháng Cortisol (từ chuột, đơn dòng) trong dung dịch đệm TRIS/BIS-TRIS với chất ổn định protein (bò).
- CHẤT KẾT HỢP: 1 chai (5,9 mL chai 100 test/26,3 mL chai 500 test) Chất kết hợp Cortisol được đánh dấu acridinium trong dung dịch đệm citrat với chất ổn định surfactant.

3. Người bệnh

- Người bệnh nghi bị rối loạn tuyến thượng thận.
- Người bệnh đang điều trị thuốc Corticoid

4. Phiếu xét nghiệm: Theo mẫu quy định của bệnh viện và của Bộ Y tế

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

1.1. Loại mẫu

- Huyết thanh, Huyết tương (potassium EDTA, sodium citrate)
- Nước tiểu đựng trong chai sạch chưa sử dụng. Không đòi hỏi phải có chất bảo quản, song có thể dùng 10g acid Boric trong 1 lít nước tiểu.

1.2. Điều kiện mẫu

- Không sử dụng các mẫu sau: bị bất hoạt do nhiệt, bị tán huyết, thấy nhiễm khuẩn bằng mắt thường, mẫu lấy từ tử thi hay các dịch cơ thể khác.
- Để có kết quả xác thực: mẫu huyết thanh và huyết tương không nên có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác. Khi lấy mẫu lưu ý phải ghi rõ thời gian lấy.
- Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.

1.3. Bảo quản

- Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 8 giờ, tách huyết tương hay huyết thanh ra khỏi cục máu đông mẫu có thể được bảo quản 14 ngày ở nhiệt độ 2-8°C. Nước tiểu bảo quản 14 ngày ở nhiệt độ 2-8°C.
- Huyết thanh, huyết tương hay nước tiểu bảo quản 30 ngày đông lạnh ở $\leq -10^{\circ}\text{C}$.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT Cortisol vào máy Architect.
- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.
- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy.
- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng.

- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn (Calibrator) và mẫu kiểm tra chất lượng (Control) CORTISOL ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.
- Yêu cầu chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng Cortisol phải giữ theo chiều thẳng đứng và nhỏ 5 giọt mẫu chuẩn hay 150 μL cho mỗi mẫu chứng vào từng cup đựng mẫu tương ứng.
- Nạp mẫu và nhấn nút RUN.

Quy trình pha loãng mẫu

Mẫu với giá trị Cortisol > 1620 nmol/L có thể pha loãng theo quy trình pha loãng tự động với tỷ lệ 1:2. Máy sẽ sử dụng hệ số pha loãng này để tự động tính nồng độ mẫu trước khi pha loãng và báo cáo kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Cortisol là hormon glucocorticoid chủ yếu được tiết ra bởi vỏ thượng thận. Chức năng sinh lý của Cortisol là điều hòa đường, điện giải và nước. Cortisol có tác dụng kháng viêm và ức chế miễn dịch. Nồng độ Cortisol cao nhất vào buổi sáng và giảm còn một nửa vào buổi tối. Có thai và điều trị estrogen hoặc bị stress sẽ làm tăng nồng độ Cortisol.

Định lượng Cortisol giúp đánh giá chức năng tuyến thượng thận.

1. Giá trị tham khảo

* Huyết thanh (Huyết tương)

| Thời gian | Giá trị (µg/dL) | Giá trị (nmol/L) |
|-------------------|-----------------|------------------|
| Trước 10 giờ sáng | 3,7 – 19,4 | 101,2 – 535,7 |
| Sau 5 giờ chiều | 2,9 – 17,3 | 79,0 – 477,8 |

2. Bệnh lý

* Tăng nồng độ Cortisol:

- U biểu mô tuyến thượng thận
- Bệnh Cushing, hội chứng Cushing
- Bỏng, sản giật, tăng huyết áp, stress

* Giảm nồng độ Cortisol:

- Bệnh Addison
- Suy thượng thận
- Hạ đường huyết
- Suy chức năng tuyến giáp.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu máu từ người bệnh có điều trị heparin có thể bị đông máu từng phần và sự xuất hiện của fibrin có thể dẫn đến sai số. Để tránh trường hợp này, nên lấy máu trước khi dùng liệu pháp heparin.

- Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả.

- Đối với những mẫu mới rã đông khuyến cáo chuyển mẫu sang ống ly tâm và ly tâm ≥ 10.000 RCF (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cup đựng mẫu để chạy xét nghiệm.
- Các mẫu xét nghiệm đã ly tâm có màng lipid ở trên cùng phải được hút vào cup chứa mẫu. Lưu ý chỉ chuyển phần dịch trong không được lẫn lipid.

47. ĐỊNH LƯỢNG CYSTATIN C

Cystatin C được sản xuất bởi các tế bào có nhân trong cơ thể với một mức độ không đổi và liên tục trong suốt cuộc đời. Do trọng lượng phân tử thấp nên cystatin C dễ dàng lọc qua màng lọc cầu thận. Nồng độ cystatin C trong máu có liên quan với mức lọc cầu thận. Khác với creatinin trong máu, nồng độ cystatin C trong máu không phụ thuộc vào tuổi, giới, cân nặng, chiều cao và khối cơ của người bệnh. Trong một số trường hợp, trị số creatinin huyết thanh sẽ không phản ánh sự tương thích với tình trạng người bệnh trên lâm sàng (mặc dù không có sai sót trong kỹ thuật phân tích hoá sinh), ví dụ với một người bệnh mắc bệnh thận có kèm mắc bệnh xơ gan, bệnh béo phì, người dinh dưỡng kém hoặc người có khối cơ bị giảm nhiều,... Trong những trường hợp này, cystatin C đặc biệt hữu ích giúp cho việc phát hiện sớm bệnh thận trong khi các thông số cũ như ure, creatinin, thanh thải creatinin có thể hầu như bình thường.

I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên nguyên lý miễn dịch. Sử dụng phương pháp miễn dịch đo độ đục có tăng cường các vi hạt latex. Cystatin C trong mẫu (huyết thanh, huyết tương) sẽ kết hợp với các vi hạt latex đã được bao phủ trên bề mặt bởi lớp kháng kháng thể, tạo thành phức hợp ngưng kết miễn dịch. Tiến hành xác định độ đục của phức hợp này bằng phương pháp đo quang bước sóng 546 nm. Dựa trên đường cong chuẩn để tính được nồng độ Cystatin C cần phân tích trong mẫu đo.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên.

2. **Phương tiện, hóa chất**

2.1 *Phương tiện*

- Các máy phân tích hóa sinh tự động: Hitachi 904, 911, 912, 917, cobas 6000, 8000, AU 400, 480, 640, 680, 2700, 5800 và một số máy khác

- Máy ly tâm

- Tủ lạnh bảo quản hóa chất

- Ống nghiệm

- Pipet các loại

- Đầu côn xanh, vàng

- Giá đựng ống nghiệm

2.2 *Hóa chất*

+ Thuốc thử 1 (R1): Solution of polymers in MOPS-buffered saline; Chất bảo quản.

+ Thuốc thử 2 (R2): Latex particles in glycine buffer coated with anti-cystatin C antibodies (rabbit); Chất bảo quản.

+ Bảo quản hóa chất:

Kit ổn định đến hạn ghi trên hộp thuốc thử khi bảo quản ở 2–8 °C

R1 và R2 : có thể ổn định trong 8 tuần khi mở nắp khi bảo quản trong khay đựng hóa chất của máy (không tắt máy).

+ Dung dịch chuẩn: dựng đường chuẩn dựa trên 6 mức nồng độ

+ Dung dịch QC (quality control) ở 2 mức Low và high

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm

- Găng tay

- Bông , cùn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh về mục đích của xét nghiệm.

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Phân tích trên mẫu máu, có thể dùng: Huyết thanh hoặc Huyết tương: chống đông Li-heparin.

- Tính ổn định của mẫu: 7ngày/ nhiệt độ 2-8°C; 6 tháng/ nhiệt độ (-15) - (-25)°C. Mẫu huyết tương, huyết thanh chỉ được đông lạnh một lần, mẫu cần được trộn đều trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

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

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 người bệnh); vận hành theo protocol của máy; chọn test và máy sẽ tự động.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- **Trị số tham khảo:** 0.47 - 1,09 mg/L

- **Cystatin C có thể tăng trong:**

Bệnh viêm gan tiến triển

Tràn dịch màng phổi

Bệnh về khớp

Người bệnh ghép thận

Đang dùng corticoid liều cao dài ngày.

- **Cystatin C có thể giảm:** người bệnh đang dùng thuốc cyclosporin

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm: Bilirubin > 1026 $\mu\text{mol/L}$ (60mg/dL); Hemoglobin > 435 $\mu\text{mol/L}$ (700 mg/dL); Yếu tố dạng thấp > 1200IU/mL

- Xử trí: Khi lấy máu thao tác tránh vỡ hồng cầu. Khi ly tâm mẫu bị vỡ nên loại lấy mẫu máu khác.

48. ĐỊNH LƯỢNG BỔ THỂ C3 (Complement 3)

Cuối thế kỷ 19, người ta tìm thấy trong huyết tương những yếu tố có khả năng diệt vi khuẩn. Năm 1895, Jules Bordet chứng minh rằng yếu tố này có thể được phân tách thành 2 thành phần: thành phần ổn định với nhiệt và thành phần không ổn định với nhiệt (nó mất hiệu lực nếu huyết thanh đã được đun nóng đến 56 °C). Thành phần không ổn định với nhiệt được gọi là bổ thể. Bổ thể được đánh số từ C1 đến C9 theo trình tự tham gia phản ứng (trừ C4 là ký hiệu theo trình tự phát hiện bổ thể). Xét nghiệm C3 (complement 3) thường được chỉ định trong một số bệnh tự miễn, ung thư, xơ gan...

I. NGUYÊN LÝ

C3 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng C3 trong thuốc thử kết hợp với C3 trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ C3 có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm C3, chất chuẩn C3, chất kiểm tra chất lượng C3.

3. Người bệnh: Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, người bệnh cần được chuẩn bị nhịn ăn ít nhất 10 h trước khi lấy máu, người bệnh tránh căng thẳng mắt ngủ trước ngày lấy máu...

4. Phiếu xét nghiệm: Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-heparin hoặc Na-heparin. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 4 ngày ở 20-25 °C, 8 ngày ở 2-8°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm C3. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm C3. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm C3 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 90-180 mg/dL.
- C3 máu tăng trong: Thấp khớp cấp, viêm khớp dạng thấp, Giai đoạn đầu của lupus ban đỏ, Ung thư (thực quản, dạ dày, trực tràng, tụy, phổi, vú, cổ tử cung, buồng trứng, tuyến tiền liệt, bàng quang).
- C3 máu giảm trong: Lupus ban đỏ toàn thân, Viêm cầu thận, thải loại ghép thận cấp, Xơ gan, Thiếu máu, nhiễm khuẩn huyết (gram âm), Viêm màng trong tim nhiễm khuẩn.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL hoặc 621 μ mol/L.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1600 mg/dL (18.2 mmol/L).
 - + Yếu tố dạng thấp < 1200IU/mL.
 - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ C3 tới 1250 mg/dL .
- 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).

49. ĐỊNH LƯỢNG BỔ THỂ C4 (Complement 4)

C4 là một loại bổ thể (Complement 4) thường được chỉ định trong một số bệnh tự miễn, ung thư, xơ gan...

I. NGUYÊN LÝ

C4 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng C4 trong thuốc thử kết hợp với C4 trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ C4 có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm C4, chất chuẩn C4, chất kiểm tra chất lượng C4.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Na-heparin, Li-heparin, hay K-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 2-8°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm C4. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm C4. Kết quả

kiểm tra chất lượng với xét nghiệm C4 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 10.0 – 40.0 mg/dL.
- C4 máu tăng trong: Viêm khớp dạng thấp thanh niên, Ung thư (thực quản, dạ dày, trực tràng, tụy, phổi, vú, cổ tử cung, buồng trứng, tuyến tiền liệt, bàng quang).
- C4 máu giảm trong: Lupus ban đỏ rải rác, Viêm cầu thận, Xơ gan, Viêm màng trong tim nhiễm khuẩn.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 900 mg/dL hay 559 μ mol/L.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1600 mg/dL (18.2 mmol/L).
 - + Yếu tố dạng thấp < 1200 IU/mL.
 - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ C4 tới 500 mg/dL (25 μ mol/L).
- 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).

50. ĐỊNH LƯỢNG hs-CRP (High sensitive C-reactive protein)

C-reactive protein (CRP) là một protein pha cấp được gan sản xuất ra và phóng thích vào máu sau một vài giờ khi mô bị tổn thương, do bị nhiễm trùng, hoặc nguyên nhân khác gây ra viêm. Xét nghiệm CRP thường chỉ định trong các bệnh như các nhiễm trùng do vi khuẩn, nhồi máu cơ tim, bệnh tự miễn...

I. NGUYÊN LÝ

hs-CRP được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng CRP trong thuốc thử kết hợp với CRP trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ CRP có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm hs-CRP, chất chuẩn hs-CRP, chất kiểm tra chất lượng hs-CRP.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-/Na-heparin, Na-/K3-EDTA, hay citrate. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định: 11 ngày ở 15–25°C, 2 tháng ở 2–8°C, 3 năm ở (-15)–(-25) °C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm hs-CRP. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm hs-CRP. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm hs-CRP đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 0.5 mg/dl.
- CRP máu tăng trong: Thấp khớp dạng thấp, sốt thấp khớp, Nhồi máu cơ tim, Nhiễm khuẩn, Phế viêm do phế cầu...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL hay 621 μ mol/L.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1600 mg/dL (18.2 mmol/L).
 - + Yếu tố dạng thấp < 1200 IU/mL.
 - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CRP tới 1000 mg/L.
- 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).

51. ĐỊNH LƯỢNG CREATININ

I. NGUYÊN LÝ

Creatinin là sản phẩm của quá trình thoái hóa creatin phosphate và creatin ở cơ. Creatinin được đào thải chủ yếu qua thận.

Creatinin máu được định lượng theo phương pháp Jaffe (đo điểm đầu và cuối)

Creatinin + acid pycric $\xrightarrow{\text{Alkaline pH}}$ phức hợp vàng cam

II. CHUẨN BỊ

- 1. Người thực hiện:** bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh
- 2. Phương tiện, hóa chất**
 - Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
 - Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.R 1: Potassium hydroxide, phosphat ...
R 2: acid pycric.
Bảo quản ở 2-8⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích
Các loại dung dịch hệ thống khác
 - Chuẩn, nước muối sinh lý
 - Control: 2 mức
 - Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...
- 3. Người bệnh:** được giải thích 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 người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- 1. Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA, heparin. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 7 ngày, ở - 20⁰C được 3 tháng. Rã đông một lần.
Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.
- 2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: Nam: 62- 106 $\mu\text{mol/L}$
Nữ: 44 – 88 $\mu\text{mol/L}$
Trẻ em: 15 – 77 $\mu\text{mol/L}$
- Tăng trong:
 - Suy thận và các bệnh về thận
 - Ngộ độc thủy ngân
 - Lupus ban đỏ
 - Ung thư (ruột, bàng quang, tinh hoàn, tử cung, tiền liệt tuyến)
 - Bệnh bạch cầu
 - Bệnh tim mạch: tăng huyết áp vô căn, nhồi máu cơ tim ...
- Giảm trong: có thai, sản giật ...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|---|----------------------------------|---|
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 171 $\mu\text{mol/L}$ | Có thể làm ảnh hưởng đến phép đo | Định lượng creatinin bằng phương pháp khác hoặc pha loãng bệnh phẩm hoặc điều trị tình trạng tăng bilirubin |
| Bệnh phẩm huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc | Kết quả có thể bị ảnh hưởng | |
| Trẻ sơ sinh, người lớn có HbF > 60 mg/dL | Ảnh hưởng kết quả | Không dùng phương pháp này để định lượng creatinin |
| Nồng độ > dải đo (15-2200 $\mu\text{mol/L}$) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |

52. ĐỊNH LƯỢNG CYFRA 21-1

Cyfra 21-1 là các mảnh cytokeratin 19, là protein làm giá đỡ không tan của tế bào, nhưng các mảnh cytokeratin như cyfra 21-1 thì tan trong huyết thanh, trọng lượng phân tử 30.000 dalton. Xét nghiệm Cyfra 21-1 thường được chỉ định trong ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư bàng quang, buồng trứng...

CYFRA 21-1 là một mảnh của cytokeratin 19, có trọng lượng phân tử khoảng 30 000 dalton. CYFRA 21-1 được chỉ định trong theo dõi điều trị, chẩn đoán ung thư phổi không tế bào nhỏ.

I. NGUYÊN LÝ

CYFRA 21-1 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. CYFRA 21-1 trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng cytokeratin 19 từ chuột gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng cytokeratin 19 từ chuột được đánh dấu bằng ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ CYFRA 21-1 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 02 người là bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.
2. **Phương tiện, hóa chất**
 - Máy móc: hệ thống máy miễn dịch
 - Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8⁰C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích
 - Các loại dung dịch hệ thống khác
 - Chuẩn
 - Control: ba mức
 - Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...
3. **Người bệnh:** được giải thích 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 người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. **Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương

chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 4 tuần, ở - 20⁰C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành XN. Để tránh những ảnh hưởng đến kết quả, bệnh phẩm, chuẩn cũng như control phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 3 miền: thấp, bình thường và cao. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: < 3,3 ng/mL
- Tăng cao và có giá trị nhất trong ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. Ngoài ra còn tăng cao trong ung thư bàng quang, buồng trứng, cổ tử cung.
- Sự giảm nồng độ Cyfra 21-1 cũng có giá trị theo dõi hiệu quả của phương pháp điều trị, khi được điều trị Cyfra 21-1 đang giảm lại tăng chứng tỏ có tái phát và sự tăng Cyfra 21-1 có thể sớm hơn 7 tháng so với dấu hiệu lâm sàng

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Lỗi sót | Xử trí |
|--|--|--|
| Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng sodium citrate | Kết quả + 10% | Không dùng ống chống đông này |
| Bệnh phẩm huyết tán, tăng bilirubin hoặc tăng lipid, đang sử dụng biotin | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm 10% | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ cyfra 21-1 > 2000 ng/mL | Hiệu ứng hook-effect | Pha loãng bệnh phẩm |
| Nồng độ cyfra 21-1 > dải đo (0,1 – 500 ng/mL) | Hi lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |

53. ĐỊNH LƯỢNG CYCLOSPORIN

I. NGUYÊN LÝ

Cyclosporin là thuốc ức chế miễn dịch chống thải ghép ở người bệnh ghép tạng.

Cyclosporin trong máu toàn phần được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh hai bước sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Cyclosporine là xét nghiệm miễn dịch hai bước để định lượng cyclosporine trong máu toàn phần: Trước khi thực hiện phân tích trên máy, bước tiền xử lý thủ công được thực hiện với mẫu máu toàn phần được ly giải với thuốc thử hòa tan, chiết tách với thuốc thử kết tủa và ly tâm.

Ở bước một, mẫu thử đã qua xử lý kết hợp với anticyclosporine đã được phủ trên các vi hạt thuận từ. Sau khi rửa, cyclosporine có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được cho vào ở bước hai để tạo hỗn hợp phản ứng.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan tỉ lệ nghịch giữa lượng cyclosporine trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.

- Hóa chất: Hóa chất tiền xử lý và tách chiết Cyclosporin. Hóa chất xét nghiệm Cyclosporin, chất chuẩn Cyclosporin, chất kiểm tra chất lượng Cyclosporin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Tùy theo yêu cầu mà có thể lấy máu định lượng Cyclosporin ở những thời điểm khác nhau.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Chỉ sử dụng mẫu máu toàn phần thu thập trong ống EDTA cho xét nghiệm Cyclosporine. Phải ghi rõ thời điểm lấy mẫu và lần cuối sử dụng Cyclosporine lên ống đựng mẫu.

- Các chất chống đông dạng lỏng có thể có làm loãng bệnh phẩm dẫn đến giảm nồng độ Cyclosporine của người bệnh.
- Bệnh phẩm ổn định đến 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C. Nếu xét nghiệm được thực hiện sau hơn 7 ngày cần bảo quản đông lạnh (-10°C hoặc lạnh hơn). Không bảo quản mẫu đã tiền xử lý.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải trộn kỹ trước khi tiền xử lý.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Xét nghiệm Cyclosporine yêu cầu phải thực hiện bước tiền xử lý bệnh phẩm bằng tay theo quy trình sau:

1. Trộn mỗi mẫu (mẫu bệnh phẩm, mẫu chuẩn hay mẫu chứng) bằng cách lắc đảo ngược nhẹ ống đựng mẫu từ 5-10 lần. Mẫu máu toàn phần để lâu hơn sẽ phải trộn lâu hơn. Nên kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo mẫu được trộn đúng cách.
2. Hút chính xác 200 μ L của mỗi mẫu vào ống XSYSTEMS Centrifuge Tube ngay sau khi trộn. Sử dụng mỗi ống tube khác nhau cho mỗi mẫu. Phải sử dụng đầu côn mới cho mỗi lần hút 200 μ L. Không được lau đầu côn. Không sử dụng lại đầu côn cho các lần chạy lặp lại.
3. Thêm 100 μ L thuốc thử ARCHITECT Cyclosporine Whole Blood Solubilization vào mỗi ống ly tâm, chú ý để đầu côn chạm vào thành ống ly tâm.
4. Thêm 400 μ L thuốc thử ARCHITECT Cyclosporine Whole Blood Precipitation vào mỗi ống ly tâm, đầu côn chạm vào thành ống. Cyclosporine Whole Blood Precipitation Reagent rất dễ bay hơi cần đóng chặt nắp khi không sử dụng để tránh bay hơi.
5. Sau khi thêm ARCHITECT Cyclosporine Whole Blood Precipitation Reagent vào tất cả các ống ly tâm, đậy nắp tất cả các ống ly tâm và trộn bằng máy Vortex từ 5-10 giây. Cài đặt chế độ trộn lắc lớn nhất. Cần quan sát bằng mắt thường để đảm bảo hỗn hợp mẫu với thuốc thử hòa tan và kết tủa đồng nhất.
6. Ly tâm các ống tube trong vòng 4 phút tốc độ ly tâm 13 000 vòng/ph.
7. Mở nắp mỗi ống tube và gạt chất nổi bề mặt vào ống Transplant Pretreatment Tube ARCHITECT iSystem. Lưu ý nên gạt mà không nên hút chất nổi bề mặt vì có thể làm vẩn đục chất kết tủa bên dưới. Chỉ ống Transplant Pretreatment Tubes (LN 1P06-01) được chấp nhận khi tiền xử lý mẫu cyclosporine sử dụng cho ARCHITECT iSystem. Độ tin cậy của các kết quả xét nghiệm ARCHITECT có thể bị ảnh hưởng

nếu không sử dụng Transplant Pretreatment Tubes cho xét nghiệm ARCHITECT Cyclosporine.

8. Lắc trộn ống Transplant Pretreatment Tube trong 5-10giây.
9. Chuyển ống Transplant Pretreatment Tube vào giá đỡ mẫu ARCHITECT.

Sau khi thực hiện xong bước tiền xử lý, tiếp tục thực hiện như sau

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vừa thực hiện xong bước tiền xử lý vào máy phân tích Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

Lưu ý: Xét nghiệm Cyclosporin nếu muốn làm lại phải thực hiện từ bước tiền xử lý. Không sử dụng lại mẫu tiền xử lý đã phân tích xong để chạy lại xét nghiệm.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Không có giá trị bình thường cho xét nghiệm này vì nó phụ thuộc vào từng người bệnh, yêu cầu điều trị cũng như thời gian lấy mẫu.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nhiều thuốc điều trị có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm Cyclosporin. Khắc phục: Bác sỹ điều trị cần nắm rõ những cảnh báo về các thuốc điều trị và nồng độ của nó ảnh hưởng thế nào đến kết quả xét nghiệm Cyclosporin trong khi đánh giá kết quả xét nghiệm.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm ít bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 40 mg/dL .
- + Protein toàn phần: <12g/dL
- + Acid Uric <20 mg/dL
- + Huyết thanh đục: Triglycerid < 1500 mg/dl.
- + Hematocrit: <25% hay >55%.

54. ĐỊNH LƯỢNG D-DIMER

I. NGUYÊN LÝ

D. Dimer là sản phẩm thoái giáng của Fibrin. D- Dimer là bằng chứng cho sự hiện diện của fibrin trong tuần hoàn. Có thể giúp chuẩn đoán bệnh lý huyết khối tĩnh mạch đã được hình thành khi người bệnh có tình trạng tăng đông máu và rải rác trong lòng mạch.

Định lượng theo phương pháp miễn dịch đo độ đục, được tăng cường các hạt latex. Các hạt latex với kích thước đồng đều được phủ bởi các kháng thể đơn dòng D-dimer đồng vị. Phức hợp kháng nguyên-kháng thể được tạo thành khi cho thêm mẫu bệnh phẩm (huyết thanh, huyết tương) có chứa D-dimer. Sự thay đổi mật độ hấp thụ theo thời gian phụ thuộc vào nồng độ của D-dimer đồng vị có trong mẫu cần phân tích.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên.
2. **Phương tiện, hóa chất**

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: modular analytics e170, cobas 6000, cobas 8000, AU 640, 680, 2700, 5800 và một số máy khác.
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, ống sample cup
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

- Thuốc thử 1 (R1) Buffer, pH 8.2
- Thuốc thử 1(R2) Các vi hạt Latex được bao phủ bởi kháng thể kháng D-dimer người: 0.15%

Thuốc thử R1 và 2 có thể ổn định đến thời hạn ghi trên hộp thuốc thử khi bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C. Khi mở nắp có thể ổn định trên khay lạnh đựng hóa chất trong thời hạn 28 ngày (không tắt máy)

- Dung dịch chuẩn: dụng đường chuẩn theo 6 điểm với các nồng độ do nhà sản xuất cung cấp.

- QC: 2 mức: low và high

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay
- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh mục đích của xét nghiệm
Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Phân tích trên mẫu máu, có thể dùng chất chống đông thích hợp là Natri citrat

Tính ổn định của mẫu ổn định 8h/nhiệt độ 15-25 °C; 4 ngày/nhiệt độ 4-8 °C; tháng/nhiệt độ -20°C

6

Mẫu chỉ được đông 1 lần, Khi vẫn đục cần phải ly tâm trước khi phân tích

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn: theo 6 nồng độ

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

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 người bệnh); chọn test và máy sẽ tự động phân tích

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

*** Giá trị tham khảo**

< 50µg/L (0,05mg/L)

***Tăng trong**

- Tắc mạch phổi
- Huyết khối tĩnh mạch sâu

- Đông máu rải rác trong lòng mạch
 - Nhồi máu cơ tim
 - Sản giật
 - Chấn thương
 - Sau điều trị fibrin
- Một số yếu tố làm tăng kết quả xét nghiệm:**
- + Thuốc tiêu fibrin
 - + Khi nồng độ RF trong máu tăng cao

- Một số chú ý:

- Khi nồng độ D-Dimer tăng cao chứng tỏ có tình trạng hình thành huyết khối và tiêu fibrin đã diễn ra.
- Khi nồng độ D-Dimer bình thường thì người bệnh chưa xảy ra tình trạng hình thành huyết khối và tiêu fibrin.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả khi: Nồng độ bilirubin > 20mg/dL; Hemoglobin > 500 mg/dL; Triglycerid > 1500mg/dL; Yếu tố dạng thấp > 100 IU/mL.
- Xử trí: Chú ý khi lấy máu tránh vỡ hồng cầu, các mẫu ở hồng cầu nên loại và lấy mẫu máu khác. Mẫu sau khi ly tâm nên phân tích trong vòng 2giờ.

55. ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN D

Vitamin D có chức năng duy trì nồng độ calci và phospho trong máu bình thường liên quan đến sự mật độ xương, giúp điều hòa sự tăng sinh của tế bào, sự biệt hóa tế bào và tân tạo thành mạch. Ngoài ra một số bệnh lý khác cũng có liên quan với tình trạng thiếu Vitamin D.

I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý định lượng theo phương pháp miễn dịch kiểu cạnh tranh, sử dụng công nghệ điện hóa phát quang (ECLIA). Tổng thời gian phân tích một mẫu 18 phút.

- Giai đoạn ủ thứ nhất: 25-OH vitamin D3 trong mẫu bệnh phẩm cạnh tranh với biotin có gắn vitamin D trong phức hợp trong thuốc thử R2 (gồm biotin-vitamin D/ polyclonal 25-OH vitamin D3- Kháng thể đặc hiệu có gắn ruthenium). Phần còn lại của phức hợp phụ thuộc vào nồng độ chất phân tích trong mẫu.
- Giai đoạn ủ thứ hai: Sau khi cho thêm các vi hạt được bao phủ bởi Streptavidin. Phức hợp được gắn kết vào pha rắn do sự tương tác giữa biotin và streptavidin
- Phức hợp phản ứng được đưa vào buồng đo. Tại đây các vi hạt được giữ lại bằng từ tính trên bề mặt điện cực. Những chất thừa được rửa đi bằng procell. Dùng một dòng điện một chiều tác động vào điện cực nhằm kích thích phát quang và cường độ tín hiệu ánh sáng phát ra có thể đo được bằng bộ phận nhân quang.
- Kết quả được tính toán dựa vào đường cong chuẩn thu được bằng cách chuẩn 2 điểm và đường cong gốc được cung cấp từ nhà sản xuất. Nồng độ chất cần định lượng tỷ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 kỹ thuật viên.

2. **Phương tiện, hóa chất**

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: Elecsys 1010, Elecsys 2010, Modular analytics e 170, cobas e 411, cobas e 601 và một số máy khác.
 - Máy ly tâm
 - Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
 - Pipet các loại, ống đựng mẫu (sample cup)
 - Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
 - Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

- Lọ 1 (M) - nắp trong, có Streptavidin-coated microparticles, thể tích 6,5 mL: (nồng độ Streptavidin-coated microparticles 0,72 mg/mL) và chất bảo quản.
- Lọ 2 (R1) nắp màu xám, có Reaction buffer: 8 mL; Acetate buffer khoảng 220 mmol/L, pH 3.9; albumin (human) 2 g/L; chất bảo quản.
- Lọ 3 (R2) nắp màu đen, có Anti-25-OH vitamin D3-Ab~³Ru(bpy); 25-OH vitamin D derivat~biotin thể tích 9 mL: Polyclonal anti-25-OH vitamin D3 antibody (sheep) labeled with ruthenium complex 1.5 mg/L; biotinylated 25-OH vitamin D 0.15 mg/L; phosphate buffer 20 mmol/L, pH 6.5; Chất bảo quản.
- Procell; Clean cell
- Dung dịch chuẩn
- Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3.

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay
- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm, để người bệnh hợp tác trong quá trình lấy mẫu.

4. Phiếu xét nghiệm

Có phiếu xét nghiệm ghi rõ yêu cầu xét nghiệm của bác sỹ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Thực hiện trên mẫu máu, có thể sử dụng: Huyết thanh; Huyết tương: dùng chất chống đông Li-Heparin, EDTA.

Tính ổn định của mẫu: Mẫu ổn định 8h/ nhiệt độ 18-25°C; 4 ngày/ nhiệt độ 2-8°C

6 tháng/nhiệt độ -20°C. Không để đông đá với mẫu huyết tương dùng chống đông Li-heparin.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

- Dụng đường chuẩn theo mẫu nhà sản xuất
- Phân tích QC: ở cả 3 level: 1, 2 và 3. Khi QC đạt mới tiến hành phân tích mẫu

2.2. Phân tích mẫu

- Mẫu bệnh phẩm sau khi ly tâm tách huyết tương, huyết thanh nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h
- Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm
- Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và thao tác theo protocol của máy, máy sẽ tự động phân tích.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo: 50 - 80 nmol/L (20-30 ng/mL).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Một số yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi: Hemoglobin > 0,062 mmol/L (0,1 g/dL); Bilirubin máu > 205 μ mol/L (12 mg/dL); Biotin > 82 nmol/L (20ng/mL); Yếu tố dạng thấp (RF) máu > 1500 IU/mL.
- Xử trí: khi chuẩn bị mẫu: mẫu bị vỡ hồng cầu có thể loại lấy mẫu máu khác.
- Người bệnh đang dùng thuốc Biotin cần ngừng thuốc \geq 8 giờ.

56. ĐỊNH LƯỢNG DIGOXIN

I. NGUYÊN LÝ

Digoxin là thuốc trợ tim thuộc nhóm glycosid .

Digoxin được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên: Cho mẫu bệnh phẩm có Digoxin tiếp xúc với kháng thể đặc hiệu kháng digoxin đánh dấu ruthenium, phức hợp miễn dịch được thành lập, lượng phức hợp tạo ra tỷ lệ với nồng độ chất phân tích có trong mẫu.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và dẫn xuất digoxin đánh dấu biotin, digoxin đánh dấu biotin cạnh tranh với digoxin trên phức hợp giữa digoxin và kháng thể digoxin đánh dấu ruthenium, hình thành phức hợp kháng nguyên kháng thể. Toàn bộ phức hợp mới trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin.

Như vậy nồng độ Digoxin trong mẫu thử càng cao thì phức hợp dẫn chất digoxin đánh dấu biotin và kháng thể kháng digoxin đánh dấu ruthenium càng thấp. Vì vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ digoxin có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Digoxin, chất chuẩn Digoxin, chất kiểm tra chất lượng Digoxin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, nên lấy máu sau khi dùng thuốc 6-8 giờ.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin, EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm digoxin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Digoxin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Digoxin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Khoảng điều trị thông thường là từ 0.9 - 1.2 ng/mL. Nếu > 2.0 ng/mL được coi là có độc tính, tuy nhiên để chẩn đoán ngộ độc cần căn cứ vào cả triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm bởi có những trường hợp chồng chéo giữa liều gây độc và liều không gây độc.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL .
 - + Tán huyết: Hemoglobin <1.0 g/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
 - + RF < 1630 IU/mL
 - + Biotin <100 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
- 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).

57. ĐỊNH LƯỢNG DIGITOXIN

I. NGUYÊN LÝ

Digitoxin được định lượng bằng phương pháp ức chế miễn dịch đo độ đục.

Kháng thể đơn dòng đặc hiệu với digitoxin và dẫn xuất digitoxin được cho vào mẫu bệnh phẩm. Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể xảy ra làm tăng độ đục, có thể được đo ở 700 nm. Digitoxin từ mẫu thử cạnh tranh với dẫn xuất digitoxin do đó ức chế các phản ứng ngưng kết.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700...

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Digitoxin, chất chuẩn Digitoxin, chất kiểm tra chất lượng Digitoxin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông do xét nghiệm này yêu cầu sử dụng mẫu bệnh phẩm là huyết thanh. Bệnh phẩm ổn định 3 ngày ở 2-8°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Nồng độ Digitoxin trong khoảng 10-30 ng/mL đủ đảm bảo tác dụng điều trị.
- Nồng độ Digitoxin >30 ng/mL có thể gây độc.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 40 mg/dL.
- + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1100 mg/dL.

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 kết quả)

58. ĐỊNH LƯỢNG CÁC CHẤT ĐIỆN GIẢI (Na⁺, K⁺, Cl⁻)

I. NGUYÊN LÝ

Các chất điện giải liên quan đến rất nhiều các chuyển hóa quan trọng trong cơ thể. Na⁺, K⁺, Cl⁻ là các ion quan trọng nhất và được sử dụng nhiều nhất. Chúng được cung cấp qua chế độ ăn, hấp thu ở dạ dày, ruột và được đào thải qua thận

Các chất điện giải máu được định lượng theo phương pháp điện cực chọn lọc gián tiếp

II. CHUẨN BỊ

- 1. Người thực hiện:** bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh
- 2. Phương tiện, hóa chất**
 - Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
 - Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. ISE reference, ISE Diluent, ISE Internal Standard.
Bảo quản ở 2-8⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích.
Các loại dung dịch hệ thống khác.
 - Điện cực các loại
 - Chuẩn
 - Control: 2 mức
 - Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...
- 3. Người bệnh:** được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.
- 4. Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- 1. Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin (không dùng chất chống đông là EDTA, oxalate xitrat). Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 14 ngày (Cl⁻ được 7 ngày). Rã đông một lần.
Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành XN.
- 2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường:

- Na: 133 – 147 mmol/l
- K: 3.4 – 4.5 mmol/l
- Clo: 94 – 111 mmol/l

- Kali máu tăng trong:

- Suy thận. thiếu niệu, vô niệu...
- Nhiễm acid, thiếu insulin (hôn mê tiểu đường)...
- Dập cơ, bóng nặng, tắc ruột cấp, suy tim, NMCT..

- Kali máu giảm trong

- Bệnh Westphal
- Cường vỏ thượng thận
- Nhiễm acid tiểu đường
- Bóng
- Dùng thuốc lợi niệu.

- Na máu tăng trong:

- Tổn thương ống thận, suy thượng thận.
- Dùng thuốc lợi niệu...

- Na máu giảm:

- Viêm thận.
- Suy tim.
- Nhiễm trùng nặng có sốt.
- Xơ gan..

- Clo máu tăng trong:

- Ăn mặn, mất nước, tiêu chảy nặng, dò ruột...
- Suy thận cấp, viêm thận.

- Cường cận giáp
 - Nhiễm kiềm hô hấp, nhiễm acid chuyển hoá.
- Clo máu giảm trong:
- Ăn nhạt.
 - Bông nặng.
 - Dùng thuốc lợi tiểu...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|---|-----------------------------|---------------------------|
| Bệnh phẩm lấy vào ống có chất chống đông EDTA hoặc các loại chất chống đông khác có chứa Natri hoặc kali hoặc clo | Sai lệch kết quả | Không sử dụng các mẫu này |
| Bệnh phẩm huyết tán | Kết quả Kali sai tùy mức độ | Không sử dụng mẫu này |

59. ĐỊNH LƯỢNG FATTY ACID BINDING PROTEIN (H-FABP)

H-FABP (Fatty Acid Binding Protein) là protein vận chuyển Acid béo và được xem là một dấu ấn sinh học tim mạch.

Protein gắn với acid béo (H-FABP) là protein bào tương khoảng 15kDa gắn với acid béo chuỗi dài có vai trò quan trọng trong chuyển hóa lipid. Có các loại FABP khác nhau: tim (H-FABP) gan (Liver-FABP), và ruột. Cơ tim người có nồng độ cao H-FABP là một marker nhạy với xơ hóa cơ tim và dùng trong chẩn đoán và theo dõi nhồi máu cơ tim

I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật định lượng H-FABP dựa trên nguyên tắc phản ứng miễn dịch gắn Enzym (ELISA). Kỹ thuật sử dụng kháng thể nguồn gốc thỏ tinh chế ái lực kháng với H-FABP cố định vào pha rắn (giếng) và một kháng thể thứ 2 kháng với H-FABP có gắn với enzym peroxidase. H-FABP trong mẫu phản ứng trực tiếp với các kháng thể 1 và 2 kết quả hình thành kiểu phức hợp sandwich với 3 thành phần mà phân tử H-FABP ở giữa. Sau khi ủ dung dịch sẽ có màu xanh do peroxidase xúc tác phân giải TMB. Phản ứng được dừng lại khi thêm dung dịch dừng phản ứng và hỗn hợp sẽ chuyển màu xanh sang vàng và được đo ở 450 nm. Nồng độ H-FABP tỷ lệ thuận với đậm độ màu đo được.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1 . Phương tiện

- Pipet thể tích 50, 100, 150, và 300 ul
- Đầu pipet dùng 1 lần.
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Máy lắc
- Máy đọc màu giếng ELISA với kính lọc 450 nm, OD >2.0

Hoá chất

- + Giếng (đĩa) chứa kháng thể thỏ kháng H-FABP. (đĩa chứa 96 giếng trong túi nắp kéo, có chất hút ẩm). Lưu trữ 2 – 8oC
- + Dung dịch kháng thể gắn enzym

- + Dung dịch chất nồng độ chuẩn (250 μ l), 1000 ng/ml H-FABP thử (bảo quản ở -20°C).
- + Dung dịch pha loãng
- + Đệm rửa
- + Thuốc thử TMB (One-Step).
- + Dung dịch dừng phản ứng (1N HCl).

2.3. Bệnh phẩm

- + Huyết thanh.
- + Huyết tương (chống đông bằng Li-Heparin, EDTA)

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Được chỉ định xét nghiệm định lượng định lượng H-FABP

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Mẫu huyết thanh hoặc huyết tương không cần xử lý trước. Trường hợp cần thiết thì pha loãng mẫu.
2. Tất cả các thuốc thử phải đạt nhiệt độ phòng trước khi sử dụng. Mẫu bệnh, mẫu chứng, mẫu chuẩn phải được xét nghiệm 2 lần.
3. Chuẩn bị mẫu chuẩn
 - Làm tan đông chuẩn H-FABP nồng độ 1000 ng/ml.
 - Đánh dấu 7 ống nghiệm với các nồng độ 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,56; và 0 ng/ml.
 - Lấy 540 μ l của dung dịch hòa loãng vào ống đánh dấu 100ng/ml và 300 μ l vào các ống còn lại
 - Lấy 60 μ l dung dịch chuẩn 1000 ng/ml H-FABP vào ống đánh dấu 100 ng/ml và lắc. Đây là dung dịch chuẩn nồng độ H-FABP 100 ng/ml.
 - Chuẩn bị mẫu chuẩn H-FABP nồng độ 50 ng/ml bằng cách trộn 300 μ l dung dịch hòa loãng với 300 μ l dung dịch chuẩn H-FABP 100 ng/ml. tương tự làm với các mẫu chuẩn H-FABP 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,56 ng/ml. Để dung dịch chuẩn H-FABP 1000 ng/ml bảo quản ở -20°C .

4. Các bước phân tích

1. Đặt các bản giếng vào bộ phận cố định
2. Hút 100 μ l các dung dịch chuẩn và mẫu thử vào các giếng
3. Cho vào mỗi giếng 100 μ l dung dịch kháng thể gắn enzym (Enzyme Conjugate)

4. Ủ ở nhiệt độ phòng ($18^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$) trong 60 phút với máy lắc nhẹ 100 rpm
5. Loại bỏ dung dịch trong các giếng bằng cách lắc nhẹ bản giếng vào chỗ bồn chứa chất thải sinh học hoặc bằng máy rửa
6. Rửa các giếng 5 lần bằng đệm rửa mỗi lần 400 μl
7. Úp ngược bản giếng vào giấy thấm để loại hết nước rửa
8. Cho 100 μl dung dịch TMB vào các giếng. lắc 10 giây
9. Ủ trong tối, nhiệt độ phòng 20 phút
10. Dừng phản ứng bằng cách thêm 100 μl dung dịch dừng vào mỗi giếng
11. Lắc 30 giây. Đảm bảo tất cả dung dịch màu xanh đã chuyển thành màu vàng ngay.
12. Đo mật độ quang ở bước sóng 450 nm với máy đọc bản giếng trong vòng 15 phút. Khi mật độ quang quá giới hạn đo có thể đo thay thế ở bước sóng 405 nm.

5. Tính kết quả.

- Tính kết quả trung bình cho mỗi mẫu chuẩn và mẫu thử
- Vẽ đường chuẩn dựa vào mật độ quang đo được và nồng độ chuẩn
- Dựa vào đường chuẩn tính ra nồng độ H-FABP mẫu thử dựa trên mật độ quang đo được.
- Mật độ quang tham khảo

| H-FABP (ng/ml) | Absorbance (450nm) |
|----------------|--------------------|
| 100 | 1,273 |
| 50 | 0,856 |
| 25 | 0,579 |
| 12,5 | 0,378 |
| 6,25 | 0,278 |
| 3,125 | 0,216 |
| 1,56 | 0,196 |
| 0 | 0,165 |

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Khi nhồi máu cơ tim H-FABP vào máu rất nhanh do kích thước nhỏ và độ hòa tan tốt. H-FABP tăng sớm sau nhồi máu cơ tim 3 giờ và trở về bình thường trong vòng 12 đến 24 giờ.

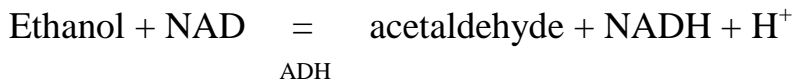
V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

- Như các kỹ thuật ELISA đòi hỏi người làm có kinh nghiệm và độ lặp lại cao
- Quá trình rửa có ý nghĩa quan trọng nếu rửa không đầy đủ và không kỹ dẫn đến kết quả sai và mật độ quang tăng giả tạo.

60. ĐỊNH LƯỢNG ETHANOL (Định lượng nồng độ cồn)

I. NGUYÊN LÝ

Ethanol được định lượng theo phương pháp động học enzym.



Ethanol và NAD được chuyển đổi thành acetaldehyd và NADH bởi ADH (alcoldehydrogenase).

Các NADH được hình thành trong quá trình phản ứng làm thay đổi độ hấp thụ, nồng độ ethanol được đo ở bước sóng 340nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 6000, AU 640....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Ethanol, chất chuẩn Ethanol, chất kiểm tra chất lượng Ethanol.

3. Người bệnh: Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, với người bệnh bị tai nạn cần thông báo với người nhà người bệnh ...

4. Phiếu xét nghiệm: Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin và EDTA. Lưu ý không sử dụng chất sát khuẩn có cồn để lấy máu. Ống lấy máu phải đạt tiêu chuẩn và nút đảm bảo chặt, kín. Máu cần chuyển tới phòng xét nghiệm trong vòng 30 phút.

- Máu cần được ly tâm ngay tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 15- 25⁰C, 2 tuần ở 2- 8⁰C, 4 tuần ở (-15)- (-25)⁰C. Nếu chống đông bằng Na Fluorid thì bệnh phẩm ổn định được 2 tuần ở 25⁰C, 3 tháng ở 5⁰C, 6 tháng ở -15⁰C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

- Bệnh phẩm (Huyết thanh, huyết tương) sau khi đã được tách cần đựng trong ống đậy kín. Bệnh phẩm cần được phân tích ngay trong vòng 5 phút, chỉ lấy bệnh phẩm đủ cho 1 lần phân tích. Nếu phải phân tích lại nên lấy mẫu bệnh phẩm khác ở ống gốc.

- Bệnh phẩm là máu toàn phần cần xử lý như sau:

Lấy 300 µl Acid tricloacetic 10% + 300 µl máu, trộn đều rồi ly tâm 5000 vòng trong 5 phút, tách lấy phần dịch nổi.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Ethanol. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Ethanol đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: <10.9 mmol/L
- Ethanol từ 10.9-21.7 mmol/l: Biểu hiện đỏ mặt, nôn mửa, phản xạ chậm chạp, giảm nhạy bén.
- 21.7 mmol/l: Biểu hiện ức chế thần kinh trung ương.
- 86.8 mmol/l: Có thể gây nguy hại cho tính mạng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL .
 - Tán huyết: Hemoglobin < 0.2 g/dl. Nếu nồng độ Hb quá mức này cần xử lý mẫu như mẫu máu toàn phần.
 - Huyết thanh đục: Triglyceride < 500 mg/dl.
 - Acid Lactic < 30 mmol/L.

61. ĐỊNH LƯỢNG ESTRADIOL (E2)

Estrogen chịu trách nhiệm phát triển tính dục nữ. Trong sinh học, dạng estrogen hoạt động chủ yếu là 17 β -Estradiol. Đây là một steroid hormone có trọng lượng phân tử khoảng 272 dalton. Estrogen chủ yếu được sản xuất ở buồng trứng nhưng một lượng nhỏ được sản xuất ở tinh hoàn và vỏ thượng thận. 98% estradiol gắn vào protein. Estrogen thay đổi theo chu kỳ kinh nguyệt.

I. NGUYÊN LÝ

E2 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Estradiol trong mẫu thử cạnh tranh với dẫn xuất Estradiol trong thuốc thử đánh dấu bằng chất ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ nghịch với nồng độ Estradiol có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...

- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8⁰C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích.

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: ba mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

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

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

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- 1. Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 2 ngày, ở - 20⁰C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm. Để tránh những ảnh hưởng đến kết quả, bệnh phẩm, chuẩn cũng như control phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 3 miền: thấp, bình thường và cao. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.

- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường:

- + Nam giới: 28 – 156 pmol/l
- + Nữ giới :
 - + Pha nang: 46 – 407 pmol/l
 - + Rụng trứng: 315 – 1828 pmol/l
 - + Thể vàng: 161 – 774 pmol/l
 - + Tiền mãn kinh: 18.4 – 201 pmol/l

- E2 máu tăng trong:

- + Dậy thì sớm ở trẻ em.
- + Bé kinh do tăng tiết hormon.
- + U lớp vỏ hay lớp hạt của nang trứng...
- + E2 phối hợp với CEA làm tăng giá trị khi chẩn đoán ung thư vú. E2 còn tăng nhẹ trong bệnh xơ gan, viêm gan, bệnh vú lành tính..

- E2 máu giảm trong:

- + Hội chứng buồng trứng không phát triển.
- + Dọa xảy thai hoặc nhiễm độc thai.
- + Hội chứng Sheehan...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|--|--|--|
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 1129 $\mu\text{mol/L}$, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng biotin | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ > dải đo (18,4-15781 pmol/L) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |

62. ĐỊNH LƯỢNG uE3 (UNCONJUGATED ESTRIOL)

Estriol là sản phẩm thoái hóa của Estradiol (là một trong ba chất estrogen). Estriol chủ yếu dưới dạng liên hợp với acid glucuronic và acid sulfuric. Một lượng nhỏ còn lại ở dạng tự do hay Estriol không liên hợp. Estrogen được tổng hợp từ buồng trứng, tinh hoàn, rau thai, vỏ thượng thận.

I. NGUYÊN LÝ

Nồng độ uE3 được xác định dựa trên phép phân tích miễn dịch cạnh tranh hóa phát quang đánh dấu enzym (Enzyme-labeled chemiluminescent competitive immunoassay)

Quy trình phản ứng:

- Ban đầu, mẫu của người bệnh sẽ được ủ với hạt bead trong vòng 30 phút. Suốt thời gian này, uE3 trong mẫu sẽ liên kết với một lượng giới hạn kháng thể đa dòng kháng Estriol được phủ trên hạt bead.
- Sau đó, thuốc thử được thêm vào tube phản ứng trên và tiếp tục ủ trong 30 phút. Estriol (liên hợp với enzym ALP) trong thuốc thử sẽ liên kết với lượng kháng thể kháng Estriol còn lại trên hạt bead.
- Những thành phần không liên kết sẽ được rửa ly tâm để loại bỏ. Cuối cùng, cơ chất phát quang được thêm vào tube phản ứng để tạo tín hiệu nhờ sự xúc tác của enzym ALP, tín hiệu thu được sẽ tỷ lệ thuận với lượng enzym ALP, hay tỷ lệ nghịch với lượng uE3 có trong mẫu.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: Bác sỹ, cử nhân được đào tạo sử dụng máy Immulite 2000.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện: Hệ thống máy phân tích Immulite 2000 của hãng SIEMENS.

2.2. Hóa chất

- Pha rắn: Hộp chứa hạt bead

- + Chứa 200 hạt bead được phủ kháng thể đa dòng kháng Estriol từ thỏ
- + Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Pha lỏng: Hộp chứa thuốc thử

- + Chứa 11,5 mL enzym ALP (từ ruột bê) liên hợp với Estriol trong dung dịch đệm, có chất bảo quản.

- + Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn
- Các dung dịch hiệu chuẩn (Adjustor) uE3:
 - + 2 lọ (mức thấp và mức cao) chứa uE3 trong huyết thanh đã được xử lý có nguồn gốc từ người (4mL/lọ).
 - + Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C trong 30 ngày sau mở nắp, 6 tháng ở -20°C.
- Các thành phần không được cung cấp kèm theo Kit:
 - + Dung dịch pha loãng mẫu: Multi-Diluent 2
 - + Cơ chất hóa phát quang (Chemiluminescent Substrate): là một ester phosphate của adamantyl dioxetane, bị thủy phân dưới xúc tác của enzym ALP tạo thành một dạng trung gian không ổn định. Chất trung gian này nhanh chóng bị phá vỡ liên kết để chuyển thành dạng ổn định, đồng thời phát xạ ánh sáng.
 - + Dung dịch rửa các kim hút (Probe wash)
 - + Dung dịch vệ sinh các kim hút (Probe Cleaning Kit)
 - + Tube phản ứng, Tube mẫu
 - + Dung dịch kiểm tra chất lượng (Control): 2 mức

*** Lưu ý:**

- + Chỉ sử dụng để chẩn đoán trong phòng thí nghiệm
- + Thuốc thử được loại bỏ theo quy định
- + Chất bảo quản Natri azide (dưới 0,1 g/dL). Khi xử lý phải dùng một lượng nước lớn để rửa, tránh sự ăn mòn đường ống.
- + Cơ chất hoá phát quang: tránh nhiễm bẩn, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời.
- + Nước: sử dụng nước cất hoặc nước đã khử ion.

3. Người bệnh

Thai phụ tham gia sàng lọc trước sinh ở quý II của thai kỳ (tuần thai từ 14 đến 20 tuần) dành cho thai phụ đến muộn hoặc sàng lọc quý I có nghi ngờ. Không nhất thiết yêu cầu người bệnh nhịn ăn trước khi lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm: theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế, phải điền đầy đủ thông tin của người bệnh...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Mẫu phân tích: Chỉ dùng Huyết thanh

- Xử lý mẫu:
 - + Đảm bảo cục máu đông co lại hoàn toàn trước khi ly tâm mẫu để tách huyết thanh, tránh nhiễu kết quả do sự có mặt của fibrin.
 - + Khi sử dụng máu bị vỡ hồng cầu, việc đánh giá kết quả cần thận trọng.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để làm trong những mẫu có Lipid cao.
- Thể tích mẫu cần thiết: 20 μ l huyết thanh.
- Bảo quản: 7 ngày ở 2 – 8°C, 6 tháng ở -20°C.
- Pha loãng mẫu: pha loãng mẫu với dung môi thích hợp trước khi phân tích nếu nghi ngờ mẫu có nồng độ uE3 cao hơn ngưỡng đo của máy

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Quy trình phân tích

- Để có kết quả tối ưu, cần tuân thủ các bước của quy trình bảo trì theo sách hướng dẫn IMMULITE 2000. Bao gồm: chuẩn bị, cài đặt, hòa loãng, hiệu chỉnh đường chuẩn (Adjustment), chạy kiểm tra chất lượng và phân tích.
- Chu kỳ hiệu chỉnh lại đường chuẩn (Adjustment) được khuyến cáo là 2 tuần, hoặc khi chạy kiểm tra chất lượng không đạt, hoặc khi thay Lot hóa chất mới.
- Chạy kiểm tra chất lượng ít nhất là 2 mức (thấp và cao)

2.2. Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

2.3. Thời gian có kết quả đầu tiên: 65 phút

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Hiện thị kết quả

- Đơn vị đo: ng/mL
Chuyển đổi đơn vị: $\text{ng/mL} \times 3,467 \rightarrow \text{nmol/mL}$
- Giới hạn đo: 0,25 – 30 ng/mL
- Độ nhạy: 0,10 ng/mL

2. Giá trị tham khảo

Mỗi Phòng thí nghiệm nên thiết lập một giá trị tham khảo riêng.

3. Đánh giá

- Một số nghiên cứu chỉ ra rằng sự giảm nồng độ uE3 trong quý II của thai kỳ liên quan đến các bất thường nhiễm sắc thể của thai nhi như hội chứng Down, hoặc hội chứng Edward. Nồng độ thấp uE3 cũng liên quan đến sự thiếu hụt steroid sulfatase của nhau thai, hoặc trường hợp thai nhi mắc hội chứng Smith-Lemli-Opitz.

- Nồng độ uE3 giảm liên tục trong quý III của thai kỳ thường cho thấy sự suy thai, hoặc nguy cơ sinh con có trọng lượng thấp.

V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Hạn chế của phương pháp

- Các kháng thể không đồng nhất trong huyết thanh người có thể phản ứng với các Ig trong thuốc thử gây nhiều kết quả phân tích
- Những người bệnh thường xuyên tiếp xúc với động vật hoặc các sản phẩm từ huyết thanh động vật cũng có thể gây nhiều kết quả phân tích
- Ở thai phụ có bệnh lý về tiền sản giật, thiếu máu hoặc suy giảm chức năng thận, kết quả uE3 thường bị sai lệch. Khi sử dụng kết quả phân tích với mục đích chẩn đoán, cần kết hợp với các triệu chứng lâm sàng và tiền sử bệnh của người bệnh.

2. Yếu tố gây nhiễu

- Các mẫu huyết thanh có nồng độ T- Bilirubin > 200 mg/L (342 μ mol/L), hoặc nồng độ Hb > 512 mg/dL, hoặc nồng độ TG > 3000 mg/dL (33,9 mmol/L) có thể ảnh hưởng đến kết quả phân tích. Do đó, không sử dụng các mẫu này để phân tích.
- Mặc dù mẫu huyết thanh ổn định ở -20°C nhưng có một nghiên cứu chưa được công bố cho rằng có sự tăng nhẹ nồng độ uE3 (khoảng 5- 10%) khi bảo quản ở nhiệt độ này. Do đó chỉ nên bảo quản huyết thanh ở 2 - 8°C và phân tích trong vòng 7 ngày.

63. ĐỊNH LƯỢNG FERRITIN

Ferritin là một protein chứa sắt là dạng dự trữ sắt chủ yếu của cơ thể được lưu trữ bên trong các tế bào. Lượng nhỏ ferritin lưu hành trong máu phản ánh tổng lượng sắt lưu trữ trong cơ thể. Xét nghiệm Ferritin thường được chỉ định trong một số trường hợp bệnh lý như: Một số bệnh máu, Ung thư, suy thận mạn...

I. NGUYÊN LÝ

Ferritin được định lượng theo nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Ferritin có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng ferritin đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng Ferritin đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ Ferritin có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm miễn dịch Elecsys 2010, Cobas e411, e170, Architect...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Ferritin, chất chuẩn Ferritin, chất kiểm tra chất lượng Ferritin.

3. Người bệnh: Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm: Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na Heparin, K3-EDTA, Sodium citrate. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Mẫu ổn định trong 7 ngày ở 2-8 °C, 12 tháng ở -20 °C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Ferritin, Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Ferritin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Ferritin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu:

+ Nam 30 - 400 ng/mL

+ Nữ 13 - 150 ng/mL

- Ferritin máu tăng trong: Các bệnh máu như Hodgkin, Lơ xê mi cấp..., Ung thư gan, tụy, phổi..., Suy thận mạn.

- Ferritin máu giảm trong: Thiếu máu do thiếu sắt.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 0.5g / dL

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 3300 mg/dL.

+ Biotin < 50 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF < 2500 IU/mL.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ Ferritin tới 100 000 ng/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).

64. ĐỊNH LƯỢNG FRUCTOSAMINE

I. NGUYÊN LÝ

Protein trong huyết thanh có thể gắn với glucose trong phản ứng glycosyl hóa tạo thành cetoamin. Fructosamine là từ để chỉ các cetoamin liên kết bởi glucose và protein. Trong máu, albumin chiếm tỷ lệ khá lớn nên định lượng fructosamin thường là albumin gắn với glucose. Thời gian bán hủy của albumin là từ 2-3 tuần nên định lượng fructosamin có thể kiểm tra mức đường huyết trong khoảng 2-3 tuần trước đó..

Fructosamin được định lượng bằng phương pháp so màu.

Bệnh phẩm và thuốc thử có Xanh-nitrotetrazolium cho tiếp xúc với nhau, formazan được tạo thành. Lượng formazan được hình thành tỷ lệ thuận với nồng độ của fructosamine trong mẫu thử được đo ở bước sóng 546nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Hitachi 717, 912, Modular P....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm fructosamine, chất chuẩn fructosamine, chất kiểm tra chất lượng fructosamine.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin, EDTA . Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 3 ngày ở 20-25°C, 2 tuần ở 2-8°C, 2 tháng ở -20°C

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường Fructosamin 205p-285 $\mu\text{mol/L}$

- Tăng ở người đái tháo đường và có thể căn cứ vào fructosamine để đánh giá tình trạng tăng đường huyết của người bệnh ở trước đó 1 – 3 tuần hay lâu hơn.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 5 mg/dL.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 500mg/dL.

+ Huyết thanh đục: Triglycerid < 2000 mg/dL.

+ Đường huyết: < 50 mmol/L

+ Acid Ascorbic: < 4 mg/dl

- 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).

65. ĐỊNH LƯỢNG FSH (Follicle stimulating hormone)

FSH là hormone điều hoà và kích thích phát triển tuyến sinh dục (tinh hoàn, buồng trứng), được thùy trước tuyến yên tiết ra, có 2 chuỗi polypeptide alpha và beta, có trọng lượng phân tử khoảng 32 000 dalton. Ở phụ nữ, FSH hoạt động theo trục vùng dưới đồi, tuyến yên, buồng trứng. Nồng độ FSH thay đổi theo chu kỳ kinh nguyệt, cao nhất vào giữa chu kỳ. Nồng độ FSH cũng tăng cao vào thời kỳ mãn kinh.

I. NGUYÊN LÝ

FSH được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. FSH trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng FSH từ chuột gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng FSH từ chuột được đánh dấu bằng ruthenium (chất đánh dấu có khả năng phát quang). Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ FSH có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8⁰C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích.
- Các loại dung dịch hệ thống khác.
 - Chuẩn
 - Control: ba mức
 - Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích 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 người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 7 ngày, ở - 20⁰C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ

phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành XN. Để tránh những ảnh hưởng đến kết quả, bệnh phẩm, chuẩn cũng như control phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 3 miền: thấp, bình thường và cao. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: Nam giới : 1.5 – 12.4 mIU/ml

Nữ giới :

Pha nang : 3.5 – 12.5 mIU/ml

Pha rụng trứng : 4.7 – 21.5 mIU/ml

Thể vàng : 1.7 – 7.7 mIU/ml

Tiền mãn kinh : 25.8 – 134.8 mIU/ml

- FSH máu tăng trong:

- + Dậy thì sớm (Nguyên nhân dưới đồi – tuyến yên).
- + Có thai, loạn sản sinh dục ở nữ.
- + Phân huỷ mô do xạ trị hoặc do virus.
- + Ung thư rau thai, HC Klinefelter.
- + Thiếu năng buồng trứng hoặc tinh hoàn...

- FSH máu giảm trong:

- + HC mãn kinh, tắt dục sớm, dùng thuốc estrogen (17 β estradiol) và nhân tạo (diethylstilbestrol).
- + Thiếu năng vùng dưới đồi.
- + Ung thư (Buồng trứng, tinh hoàn, thượng thận), buồng trứng đa nang, thiếu năng tuyến yên ...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|--|---|--|
| Bệnh phẩm lấy và ống sodium citrate | Kết quả thấp hơn so với dùng huyết thanh khoảng 20% | Không dùng loại chất chống đông này |
| Bệnh phẩm lấy vào ống sodium fluoride hoặc potassium oxalate | Kết quả thấp hơn so với dùng huyết thanh khoảng 14% | Không dùng loại chất chống đông này |
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 1094 $\mu\text{mol/L}$, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng biotin | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ > dải đo (0,1-200mIU/mL) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |
| Nồng độ >2000 mIU/mL | Hiệu ứng hook-effect | Pha loãng bệnh phẩm |

66. ĐỊNH LƯỢNG free β hCG (β hCG tự do)

hCG (human chorionic gonadotropin) là glycoprotein bao gồm 244 acid amin có trọng lượng phân tử 36.7 kDa. hCG bao gồm 2 chuỗi là α và β liên kết với nhau trong phân tử hormone toàn vẹn. Chuỗi α hCG giống với chuỗi α của LH, FSH và TSH, trong khi chuỗi β lại có cấu trúc khác và là duy nhất cho hCG, điều này quyết định hoạt tính sinh học và chức năng của hCG. hCG được coi là hormone của nhau thai bởi nó được tiết bởi nhau thai trong thời kỳ mang thai. hCG có chức năng nuôi dưỡng trứng sau khi thụ tinh (kích thích hoàng thể tiếp tục tiết estrogen, progesterone và một số nội tiết khác có vai trò quan trọng giúp quá trình phát triển thai luôn bình thường và bền vững) và giúp trứng bám vào thành tử cung. β hCG tự do (free β hCG) chỉ chiếm khoảng 1% hCG.

I. NGUYÊN LÝ

β hCG tự do được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. β hCG tự do có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng β hCG đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng β hCG đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ β hCG có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm β hCG tự do, chất chuẩn β hCG tự do, chất kiểm tra chất lượng β hCG tự do.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông do xét nghiệm này yêu cầu sử dụng huyết thanh.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh.
- Bệnh phẩm ổn định 8h ở 15-25°C, 7 ngày ở 2-8°C, 10 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm β hCG tự do. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm β hCG tự do. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm β hCG tự do đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường, ở phụ nữ không mang thai β hCG tự do <0.013 IU/L

Phụ nữ có thai:

12 tuần: 49.9 IU/L

13 tuần: 40.6 IU/L

14 tuần: 33.6 IU/L

15 tuần: 29.8 IU/L

β hCG tự do tăng trong những trường hợp thai phụ có thai mắc hội chứng Down. Để đánh giá nguy cơ này thường kết hợp với PAPP-A và cần sử dụng phần mềm SsdwLab 5.0

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Lấy nhầm ống vào ống chống đông. Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi

nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL hay 428 μ mol/L.

- + Tán huyết: Hemoglobin < 1.0 g/dl.

- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

- + Biotin < 30 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8 giờ sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ β hCG tự do tới 800 IU/L.

- RF < 1000 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).

67. ĐỊNH LƯỢNG FOLATE II

(Định lượng Folate sử dụng thuốc thử thể hệ II)

Folate (hay axit Folic) là vitamin B9. Đây là một dạng vitamin hỗn hợp nhóm B hòa tan trong nước. Folate có nhiều trong các loại thịt đỏ, gan, lòng đỏ trứng và rau có màu xanh đậm (rau muống, rau bó xôi, súp lơ, bông cải xanh...), các loại ngũ cốc và đậu (đậu đũa, đậu xanh, đậu tương, đậu Hà Lan...). Loại vitamin này rất cần thiết cho quá trình tái tạo và duy trì tăng trưởng của mọi tế bào. Xét nghiệm Folate thường được chỉ định trong những trường hợp bệnh lý về máu, thiếu dinh dưỡng...

I. NGUYÊN LÝ

Folate được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên, mẫu thử được xử lý bằng thuốc thử tiền xử lý folate 1 và 2, folate gắn kết được giải phóng khỏi protein gắn kết folate nội sinh. Tiếp theo protein gắn kết kháng thể kháng folate được đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho vào mẫu thử đã qua tiền xử lý, phức hợp kháng nguyên- kháng thể folate được thành lập, lượng phức hợp tạo ra tỉ lệ với nồng độ chất phân tích có trong mẫu.

Sau khi thêm vào các vi hạt phủ streptavidin và folate đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên protein gắn kết kháng thể kháng folate đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ, hình thành phức hợp miễn dịch. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ folate trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ Folate có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay

- Hóa chất: Hóa chất tiền xử lý, Hóa chất định lượng Folate (thể hệ II), chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng Folate

- Máy móc: Có thể sử dụng các máy như Cobas e411, e170, e601, Architect...

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh.
- Bệnh phẩm ổn định 2 giờ ở 20-25°C, 2 ngày ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C. Bảo quản bệnh phẩm tránh ánh sáng. Nếu không phân tích ngay bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm FolateII. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Folate II. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Folate đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường Folate trong huyết thanh: 9.5 – 45.2 nmol/L
- Folate giảm trong: Thiếu máu ác tính, Thiếu máu hủy huyết, Thiếu máu hồng cầu to, Dinh dưỡng kém, Xơ gan, Cường giáp, Dùng một số thuốc như thuốc điều trị bệnh ác tính, Một vài trường hợp mang thai

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Lấy máu không đúng kỹ thuật như gây vỡ hồng cầu. Khắc phục: Huấn luyện cán bộ có kỹ năng lấy máu thuần thục.
- Bệnh phẩm để lâu mới phân tích. Khắc phục: Nên xét nghiệm ngay sau khi bệnh phẩm được gửi đến phòng xét nghiệm.

- Lấy nhầm vào ống chống đông. Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.
- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm
- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 40 mg/dL .
 - + Tán huyết: Mẫu máu vỡ hồng cầu ảnh hưởng nhiều đến kết quả xét nghiệm do nồng độ folate trong hồng cầu cao, không sử dụng mẫu máu vỡ hồng cầu ở bất kỳ mức độ nào để làm xét nghiệm này.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
 - + Biotin <30 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
 - + Bệnh phẩm có nồng độ protein quá cao không thích hợp cho xét nghiệm do tạo gel trong cốc phản ứng.
 - + 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).

68. ĐỊNH LƯỢNG FT3 (Free tri iodothyronine)

Phần lớn T3 trong máu gắn kết với protein vận chuyển (TBG, Albumin, Prealbumin), phần không gắn kết là FT3, đây là phần có hoạt tính sinh học của T3. Xét nghiệm FT3 thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp...

I. NGUYÊN LÝ

FT3 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên FT3 trong mẫu thử và kháng thể đặc hiệu kháng FT3 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho tiếp xúc với nhau.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và FT3 đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên kháng thể đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ FT3 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ FT3 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm FT3, chất chuẩn FT3, chất kiểm tra chất lượng FT3.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH₄-Heparin và K₃-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm FT3. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm FT3. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm FT3 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu: 3.95 - 6.8 pmol/l
- FT3 máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp
- FT3 máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên, Suy giáp.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 37 mg/dL .
- + Tán huyết: Hemoglobin < 2.0 g/dl.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
- + Biotin < 20 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

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).

69. ĐỊNH LƯỢNG FT4 (Free thyroxine)

Phần lớn T4 trong máu gắn kết với protein vận chuyển (TBG, Albumin, Prealbumin), phần không gắn kết là FT4, đây là phần có hoạt tính sinh học của T4. Xét nghiệm FT4 thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp...

I. NGUYÊN LÝ

FT4 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên FT4 trong mẫu thử và kháng thể đặc hiệu kháng FT4 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho tiếp xúc với nhau.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và FT4 đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên kháng thể đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ FT4 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ FT4 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm FT4, chất chuẩn FT4, chất kiểm tra chất lượng FT4.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là NH₄Li, Na-Heparin và K₃-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

Sau khi tách được huyết thanh, bệnh phẩm được chuyển đến máy phân tích

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm FT4. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm FT4. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm FT4 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 12 -22 pmol/l

- FT4 máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp

- FT4 máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên, Suy giáp.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 41 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin <2.0 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.

+ Biotin <100 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF <339 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).

70. ĐỊNH LƯỢNG GALECTIN 3

I. NGUYÊN LÝ

Galectin 3 là protein thuộc nhóm Lectin, có khoảng 14 galectin đã được phát hiện. Galectin 3 có trọng lượng phân tử khoảng 30kD và có nhiều chức năng như hoạt hóa và tăng trưởng tế bào, kết dính tế bào và cả apoptosis... Do có nhiều chức năng như vậy nên nó cũng liên quan đến nhiều bệnh lý như ung thư, viêm, tim mạch và đột quy... Tuy nhiên ý nghĩa của xét nghiệm Galectin 3 chủ yếu liên quan đến bệnh lý tim mạch.

Galectin 3 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Galectin 3 là xét nghiệm miễn dịch hai bước để định lượng Galectin.

Ở bước một, bệnh phẩm có chứa Galectin 3, và vi hạt thuận từ phủ anti-Galectin 3 được kết hợp lại. Galectin 3 có trong mẫu bệnh phẩm gắn với các vi hạt phủ anti-Galectin 3. Sau khi rửa, chất kết hợp anti-Galectin 3 có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được cho vào ở bước hai để tạo hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng Galectin 3 trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Architect....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Galectin 3, chất chuẩn Galectin 3, chất kiểm tra chất lượng Galectin 3.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 4 ngày ở 2-8°C, nếu thực hiện phân tích sau 4 ngày kể từ khi lấy mẫu cần trữ đông ở -10°C hay lạnh hơn.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Galectin 3. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Galectin 3. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Galectin 3 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường:
 - Chung cho cả nam và nữ: 9.3-25.7 ng/mL
 - Nam: 9.0-23.6 ng/mL
 - Nữ: 9.8-27.2 ng/mL
- Galectin 3 máu tăng trong: Suy tim, nhồi máu cơ tim

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin trực tiếp hoặc gián tiếp < 40 mg/dL .
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 0.5 g/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 3000 mg/dl.
 - + RF < 800 IU/mL

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” khi nồng độ Galectin 3 tới 1345.6 ng/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).

71. ĐỊNH LƯỢNG GASTRIN

Gastrin là một hormon tiêu hóa chính, có tác dụng kích thích tiết acid dạ dày. Gastrin được sản xuất bởi tế bào G của tá tràng và vùng hang vị trong môn vị của dạ dày. Gastrin tồn tại dưới 3 dạng chính: Gastrin-34, Gastrin-17 và Gastrin -14

I. NGUYÊN LÝ

Nồng độ Gastrin được xác định dựa trên phép phân tích miễn dịch hóa phát quang đánh dấu enzym (Enzyme-labeled chemiluminescent immunoassay).

Quy trình phản ứng:

+ Mẫu của người bệnh và thuốc thử sẽ được ủ cùng với hạt bead trong vòng 60 phút. Suốt thời gian này, Gastrin trong mẫu sẽ liên kết với kháng thể đơn dòng kháng Gastrin (có gắn ligand) và liên kết với kháng thể đa dòng hoặc đơn dòng kháng Gastrin (có liên hợp với enzym ALP) trong thuốc thử để tạo thành phức hợp Sandwich: *Kháng thể (gắn ligand)-Kháng nguyên-Kháng thể (liên hợp ALP)*

+ Gastrin của mẫu trong phức hợp Sandwich sẽ được gắn lên hạt bead (được phủ anti-ligand) nhờ liên kết giữa ligand và anti-ligand.

+ Những thành phần không liên kết sẽ được rửa ly tâm để loại bỏ. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào tube phản ứng để tạo tín hiệu nhờ sự xúc tác của enzym ALP, tín hiệu thu được sẽ tỷ lệ thuận với lượng enzym ALP (có trong thuốc thử), hay tỷ lệ thuận với lượng Gastrin có trong mẫu

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ, cử nhân được đào tạo sử dụng máy Immulite 2000

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

Hệ thống máy phân tích Immulite 2000 của hãng SIEMENS

2.2. Hóa chất:

- Pha rắn: Hộp chứa hạt bead

+ Chứa 200 hạt bead được phủ anti-ligand có nguồn gốc từ Streptavidin

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Pha lỏng: Hộp chứa thuốc thử

+ Chứa 11,5 mL ligand có gắn kháng thể đơn dòng kháng Gastrin từ chuột, ALP (từ ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng kháng Gastrin từ chuột,

và ALP (từ ruột bê) liên hợp với kháng thể đa dòng kháng Gastrin từ thỏ, trong dung dịch đệm.

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Các dung dịch hiệu chuẩn (Adjustor) Gastrin:

+ 2 lọ chứa Gastrin-17 (mức thấp và mức cao) trong huyết thanh đông khô có nguồn gốc từ người. Hoàn nguyên chất đông khô trong mỗi lọ với 2 mL nước cất hoặc nước đã khử ion, đảo trộn nhẹ nhàng để chất đông khô tan hoàn toàn.

+ Bảo quản ổn định ở -20°C trong 30 ngày sau khi pha.

+ *(Không để ở 2-8°C vì dung dịch rất nhanh hỏng sau khi pha)*

- Các thành phần không được cung cấp kèm theo Kit:

+ Dung dịch pha loãng mẫu: Multi-Diluent 2

+ Cơ chất hóa phát quang (Chemiluminescent Substrate): là một ester phosphate của adamantyl dioxetane, bị thủy phân dưới xúc tác của enzym ALP tạo thành một dạng trung gian không ổn định. Chất trung gian này nhanh chóng bị phá vỡ liên kết để chuyển thành dạng ổn định, đồng thời phát xạ ánh sáng.

+ Dung dịch rửa các kim hút (Probe wash)

+ Dung dịch vệ sinh các kim hút (Probe Cleaning Kit)

+ Tube phản ứng, Tube mẫu

+ Dung dịch kiểm tra chất lượng (Control): 2 mức

*** Lưu ý:**

+ *Chỉ sử dụng để chẩn đoán trong phòng thí nghiệm*

+ *Thuốc thử được loại bỏ theo quy định*

+ *Chất bảo quản Natri azide (dưới 0,1 g/dL). Khi xử lý phải dùng một lượng nước lớn để rửa, tránh sự ăn mòn đường ống.*

+ *Cơ chất hoá phát quang: tránh nhiễm bẩn, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời.*

+ *Nước: sử dụng nước cất hoặc nước đã khử ion.*

3. Người bệnh

- Người bệnh được chẩn đoán mắc hội chứng Zollinger – Ellison

- Trước khi làm xét nghiệm Gastrin, người bệnh phải nhịn ăn qua đêm, tối thiểu là 12 giờ.

- 4. Phiếu xét nghiệm:** theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế, phải điền đầy đủ thông tin người bệnh...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Mẫu phân tích: Chỉ dùng *Huyết thanh*

- Xử lý mẫu:

- + Đảm bảo cục máu đông co lại hoàn toàn trước khi ly tâm mẫu để tách huyết thanh, tránh nhiễu kết quả do sự có mặt của fibrin.

Lưu ý: sau khi cục máu đông co hoàn toàn, tiến hành *ly tâm lạnh* để tách huyết thanh càng sớm càng tốt, sau đó nhanh chóng bảo quản đông.

- + Khi sử dụng máu bị vỡ hồng cầu, việc đánh giá kết quả cần thận trọng.

- + Sử dụng máy siêu ly tâm để làm trong những mẫu có Lipid cao.

- Thể tích mẫu cần thiết: 50 µl huyết thanh.

- Bảo quản: 4 giờ ở 2 – 8°C, 30 ngày ở -20°C.

- Pha loãng mẫu: pha loãng mẫu trước khi phân tích nếu nghi ngờ mẫu có nồng độ Gastrin cao hơn ngưỡng đo của máy

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Quy trình phân tích

- Để có kết quả tối ưu, cần tuân thủ các bước của quy trình bảo trì theo sách hướng dẫn IMMULITE 2000. Bao gồm: chuẩn bị, cài đặt, hòa loãng, hiệu chỉnh đường chuẩn (Adjustment), chạy kiểm tra chất lượng và phân tích.
- Chu kỳ hiệu chỉnh lại đường chuẩn (Adjustment) được khuyến cáo là 2 tuần, hoặc khi chạy kiểm tra chất lượng không đạt, hoặc khi thay Lot hóa chất mới.
- Chạy kiểm tra chất lượng ít nhất là 2 mức (thấp và cao)

2.2. *Chu kỳ ủ:* 1 x 60 phút

2.3. *Thời gian có kết quả đầu tiên:* 65 phút

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Hiện thị kết quả

- Đơn vị đo: pg/mL

Hệ số chuyển đổi đơn vị:

$$\text{pg/mL} \times 1 \rightarrow \text{mIU/L}$$

$$\text{pg/mL} \times 0,47664 \rightarrow \text{pmol/L}$$

- Giới hạn đo: 5 – 1000 pg/mL
- Độ nhạy: 5 pg/mL

2. Giá trị tham khảo

- Giá trị trung vị: 32 pg/mL
- Giới hạn 95% (khoảng tin cậy): từ 13 – 115 pg/mL

Mỗi Phòng thí nghiệm nên thiết lập một giá trị tham khảo riêng.

3. Đánh giá

- Gastrin đóng vai trò chính trong việc xác định Hội chứng Zollinger-Ellison. Trong hội chứng này có sự tăng sản xuất Gastrin làm dạ dày sản xuất dư thừa acid HCl, gây loét dạ dày. Nguyên nhân thường do *khối u ở tá tràng hay tụy làm tăng sản xuất Gastrin.*

- Nồng độ Gastrin cao còn gặp trong một số trường hợp khác:
 - + Trường hợp bị suy giảm tiết acid dạ dày, ví dụ như trong bệnh thiếu máu ác tính.
 - + Tắc nghẽn môn vị kèm trướng hang vị
 - + Sau thủ thuật cắt thần kinh phế vị
 - + Một số bệnh viêm loét đường tiêu hóa thông thường.

V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Hạn chế của phương pháp

- Các kháng thể không đồng nhất trong huyết thanh người có thể phản ứng với các Ig trong thuốc thử gây nhiều kết quả phân tích
- Những người bệnh thường xuyên tiếp xúc với động vật hoặc các sản phẩm từ huyết thanh động vật cũng có thể gây nhiều kết quả phân tích
- Sử dụng kết quả phân tích với mục đích chẩn đoán, cần kết hợp với các triệu chứng lâm sàng và tiền sử bệnh của người bệnh.

2. Yếu tố gây nhiễu

- Hiệu ứng High-dose Hook: ≥ 226.000 pg/mL (đối với Gastrin G-17 loại I)
- Các mẫu huyết thanh có nồng độ Bilirubin (trực tiếp hoặc gián tiếp) > 50 mg/L ($85,5$ $\mu\text{mol/L}$), hoặc nồng độ Hb > 550 mg/dL, hoặc nồng độ TG > 1000 mg/dL ($11,3$ mmol/L) sẽ ảnh hưởng đến kết quả. *Do đó, không sử dụng các mẫu này để phân tích.*

72. ĐO HOẠT ĐỘ G6PD

I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ Enzym được xác định bằng cách đo tốc độ tăng mật độ quang ở bước sóng 340nm do sự tăng nồng độ của NADPH.



II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

02 người là bác sĩ, kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700 hoặc AU640
- Máy ly tâm
- Hóa chất làm xét nghiệm G6PD của hãng Randox
- QC kiểm tra mức bình thường
- QC kiểm tra mức bệnh lý
- Nước muối sinh lý

3. Người bệnh

4. Phiếu xét nghiệm

Ghi đầy đủ thông tin cần thiết: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Máu toàn phần chống đông với EDTA, Heparine hoặc ACD (Acid Citric Dextrose). G6PD trong máu toàn phần ổn định 1 tuần ở 2-8°C, không ổn định trong dịch huyết tán. Không được để đông đá.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Rửa hồng cầu:

Lấy 0,2 ml máu toàn phần cho thêm vào 3ml nước muối sinh lý. Ly tâm 3000 vòng trong 10 phút.

Hút hết nước muối ở trên, rửa thêm 2 lần nữa. Hút hết nước muối.

Phá vỡ hồng cầu bằng 0,5ml dung dịch phá vỡ hồng cầu.

Lắc bằng máy lắc. Để 15 phút ở 2 - 8°C. Ly tâm hút dịch phía trên.

- Chạy phân tích trên máy hoá sinh tự động: Đặt vào Rach và cho vào máy sinh hóa tự động.

- Tính toán kết quả: Chia kết quả đo được trên máy cho số lượng hồng cầu trong 1 L máu hoặc hàm lượng Hb trong 1 L máu.

- Kiểm soát chất lượng:

+ Hàng ngày: Chạy 2 mức kiểm QC tra chất lượng mỗi khi phân tích mẫu bệnh phẩm. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức QC nằm trong khoảng cho phép.

+ Định kỳ: 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 chuẩn máy xét nghiệm.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

Hoạt độ G6PD hồng cầu: $> 200 \text{ IU}/10^{12}$ Hồng cầu hoặc $> 6.0 \text{ IU/gHb}$

2. Ý nghĩa lâm sàng

- Thiếu hụt G6PD là một rối loạn Enzym liên quan giới tính. Có hơn 500 biến thể của bệnh này (Nhiễm sắc thể X)
- G6PD còn giảm trong bệnh thiếu máu hồng cầu hình cầu hiếm gặp và các bệnh huyết tán không do miễn dịch ở trẻ sơ sinh.
- G6PD tăng trong các bệnh: Thiếu máu ác tính, xuất huyết..tự phát, hôn mê gan, cường giáp, nhồi máu cơ tim, bệnh máu mạn tính và các bệnh thiếu máu nguyên hồng cầu khổng lồ khác.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

- Lưu ý các yếu tố ảnh hưởng như đồng, sulphat là những chất ức chế mạnh.
- Hồng cầu lưới có hoạt độ enzyme G6PD cao hơn hồng cầu trưởng thành vì vậy không nên làm xét nghiệm này sau một cơn tan máu nặng.

73. ĐỊNH LƯỢNG GH (Growth Hormon)

I. NGUYÊN LÝ

- Phương pháp ELISA có rất nhiều dạng mà đặc điểm chung là đều dựa trên sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể, trong đó kháng thể được gắn với enzyme.
- Xét nghiệm DRG HGH ELISA là loại xét nghiệm dựa trên nguyên lý của Kỹ thuật xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzyme ở pha rắn (đáy giếng).
- Xét nghiệm này sử dụng một loại kháng thể anti-HGH ở cừu (còn gọi là kháng thể bắt) cho pha rắn cố định (đáy giếng) và một loại kháng thể thứ 2 là kháng thể đơn dòng anti-HGH ở chuột (còn gọi là kháng thể phát hiện), kháng thể này được gắn kết với enzyme horseradish peroxidase. Mẫu xét nghiệm này cho phép phản ứng đồng thời với 2 loại kháng thể, kết quả là những phân tử HGH bị kẹp thành miếng sandwich giữa pha rắn và những kháng thể gắn kết với enzyme.
- Sau khi ủ 45 phút ở nhiệt độ phòng, các giếng được rửa bằng nước nhằm loại bỏ những kháng thể dính không chuyên biệt. Dung dịch TMB được cho thêm vào và ủ khoảng 20 phút, kết quả hỗn hợp có màu xanh dương. Tuy nhiên, hỗn hợp này sẽ chuyển sang màu vàng khi cho HCl 1N vào, và được đo tại bước sóng 450 nm. Nồng độ của HGH tỷ lệ với cường độ màu của mẫu xét nghiệm.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** người thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Hóa chất và thuốc thử trong bộ Kit của nhà cung cấp

| | |
|--|--|
| Giếng chứa kháng thể (1 đĩa, 96 giếng) | Đáy giếng có chứa kháng thể cừu anti-HGH |
| Thuốc thử gắn kết enzyme (13 ml) | Thuốc thử có chứa kháng thể đơn dòng anti-HGH ở chuột gắn kết với enzyme horseradish peroxidase. |
| Bộ mẫu chuẩn tham chiếu (1 ml/lọ) | Chứa 0, 2.5, 5.5, 10, 25 và 50 ng/ml hormone tăng trưởng ở người. |
| Thuốc thử TMB (1chai, 11 ml) | Chứa 3, 3', 5, 5' Tetramethylbenzidine (TMB) được ổn định trong dung dịch đệm. |
| Dung dịch ngừng phản ứng (1N HCl) (1 chai, 11 ml) | Chứa acid hydrochloric đã pha loãng |

2.2. *Vật liệu tự chuẩn bị*

- Nước cất hoặc nước khử ion
- Pippet 0.05, 1.0, 0.2 và 1mL
- Đầu côn
- Giếng 96 lỗ
- Giấy thấm
- Giấy kẻ
- Máy vortex
- Mẫu QC (ví dụ: mẫu huyết thanh của hãng Biorad Lyphochek Control)

1. *Dụng cụ*

Giếng đọc tại độ rộng dải tần là 10nm hoặc thấp hơn và giới hạn của mật độ quang học từ 0-2 OD hoặc ở bước sóng lớn hơn 45nm là độ hấp thụ đo được. **Lưu ý:**

- Kit này chứa đựng những vật liệu từ người, do đó những nguồn vật liệu được dùng để sản xuất bộ kit này đã được kiểm tra HBsAg, HIV ½ và HCV âm tính. Tuy nhiên, không có phương pháp nào là đảm bảo chắc chắn rằng không có mặt những tác nhân này. Do đó, tất cả những sản phẩm máu từ người, bao gồm cả mẫu huyết thanh, đều phải được xem xét sự lây nhiễm tiềm ẩn, Việc xử lý và loại bỏ phải được xác định thông qua hướng dẫn hay quy định về an toàn sinh học cấp quốc gia.
- Không sử dụng thuốc thử hết hạn dùng và không trộn lẫn các thành phần thuốc thử lại với nhau từ các bộ kit có số lô khác nhau.
- Không sử dụng thuốc thử bị đục hoặc bị nhiễm bẩn.
- Không sử dụng thuốc thử nếu chai lọ bị hỏng.
- Mỗi giếng chỉ sử dụng một lần.
- Không hút thuốc thử bằng miệng.
- Các dung dịch nên có chất bảo quản, không nên sử dụng trong phản ứng enzyme.
- Tránh tiếp xúc với HCl 1N nếu không sẽ gây rát và bỏng cho da. Nếu tiếp xúc phải rửa lại nhiều lần với nước và bôi thuốc.
- Chỉ dùng trong chuẩn đoán.

2.4. Điều kiện bảo quản: Bộ kit khi chưa sử dụng nên bảo quản ở 2-8⁰C, và xem hạn sử dụng ghi trên nhãn.

- Thuốc thử được mở và sử dụng phải ổn định cho đến khi hết hạn dùng nếu được bảo quản đúng ở 2-8⁰C.
- Các đĩa phải được đặt trong túi hút ẩm để giảm thiểu không khí tiếp xúc.

3. *Người bệnh*

Người bệnh có triệu chứng lâm sàng về bệnh liên quan đến hormone GHG,...

Mục đích và chỉ định xét nghiệm

Xét nghiệm được sử dụng để chẩn đoán tình trạng rối loạn phát triển ở trẻ em: Chứng lùn tuyến yên (do giảm tiết GH ở trẻ em); Chứng người khổng lồ (do tăng tiết GH ở trẻ đang tuổi phát triển chiều cao) và chứng to đầu chi (do tăng tiết GH ở người trưởng thành).

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh lấy từ máu toàn phần. Tránh sử dụng những hóa chất thêm vào. Tránh những mẫu xét nghiệm bị tán huyết hay mẫu bị đục.
- Mẫu bệnh phẩm nên được đậy và bảo quản ở nhiệt độ 2-8⁰C trong 48h trước khi dùng làm xét nghiệm, và mẫu bệnh phẩm bảo quản trên 6 tháng sẽ được đông khô tại -20⁰C .

2. Tiến hành kỹ thuật

- Đảm bảo số lượng giếng có trong ngăn chứa.
- Hút 50 μ L mẫu chuẩn, bệnh phẩm, và mẫu control vào trong các giếng tương ứng.
- Thêm 100 μ L thuốc thử gắn kết enzyme vào mỗi giếng.
- Trộn đều trong 30 giây.
- Ủ ở nhiệt độ phòng (18-25⁰C) trong 45 phút.
- Gõ nhẹ đáy giếng và rửa 5 lần bằng nước cất.
- Thêm 100 μ L thuốc thử TMB vào mỗi giếng và trộn nhẹ nhàng trong 5 giây.
- Ủ ở nhiệt độ phòng, trong bóng tối khoảng 20 phút.
- Thêm 100 μ L dung dịch Stop Solution vào mỗi giếng để ngừng phản ứng.
- Trộn nhẹ nhàng trong 30 giây, phải đảm bảo rằng màu xanh dương trong mẫu đã hoàn toàn chuyển sang màu vàng.
- Đọc độ hấp thụ tại bước sóng 450nm trong 15 phút.

Lưu ý:

- Không nên dùng hơn 32 giếng để chạy xét nghiệm.
- Việc hút mẫu chuẩn, mẫu bệnh phẩm, mẫu control chỉ thực hiện trong vòng 3 phút.
- Tất cả các mẫu chuẩn, mẫu bệnh phẩm, mẫu control nên chạy 2 lần trong cùng điều kiện xét nghiệm.
- Nên đọc kết quả trong 15 phút kể từ lúc cho dung dịch Stop Solution vào.

IV. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

- Tính toán độ hấp thụ trung bình tại bước sóng (OD₄₅₀) khi chạy lặp lại 2 lần trên mẫu chuẩn, mẫu control và mẫu bệnh phẩm.
- Xây dựng đường cong chuẩn, vẽ đồ thị độ hấp thụ của mẫu chuẩn trên trục Y và nồng độ của chất chuẩn trên trục X.

- Sử dụng giá trị hấp thụ trung bình cho mỗi mẫu bệnh phẩm để xác định nồng độ tương ứng của HGH, đơn vị tính bằng ng/mL từ đường chuẩn.

Giá trị mong đợi:

- Mỗi phòng xét nghiệm phải xây dựng ngưỡng bình thường dựa trên sự tập hợp người bệnh. Ngưỡng bình thường của hormone tăng trưởng ở người rất khó xác định do những thay đổi sinh lý bất thường của hormone HGH. Hầu hết ở người trưởng thành sau một đêm nhịn đói thì mức độ của HGH trong huyết thanh là 7ng/mL hoặc thấp hơn. Những thay đổi của hormone HGH trong các phản ứng kích thích đưa ra sự đánh giá chính xác hơn về rối loạn chức năng tuyến yên.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Không có mốc ảnh hưởng đối với xét nghiệm HGH có nồng độ ≥ 1000 ng/ml
- Các kết quả tin cậy và tái lập có được khi quy trình xét nghiệm được thực hiện theo các quy định trong “thực hành tốt trong xét nghiệm” và tuân thủ đóng gói theo hướng dẫn đi kèm.
- Các kết quả có được sử dụng để hỗ trợ cho các quy trình chuẩn đoán khác và cung cấp các thông tin có sẵn cho bác sĩ lâm sàng.
- Quy trình rửa rất quan trọng, nếu rửa không đủ sẽ cho kết quả không chính xác và đọc sai độ hấp thụ.

74. ĐO HOẠT ĐỘ GLDH (Glutamat dehydrogenase)

I. NGUYÊN LÝ

GLDH xúc tác phản ứng chuyển NH_3 cho α -cetoglutarat với sự tham gia của NADH để tạo thành glutamat và NAD. Hoạt độ GLDH được đo bằng sự giảm mật độ quang của NADH được đo tại bước sóng 340 nm theo thời gian.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên của phòng xét nghiệm có nhiệm vụ nhận và kiểm tra chất lượng của mẫu bệnh phẩm bằng cách đối chiếu với các tiêu chuẩn loại bỏ và thực hiện phân tích theo phương pháp đã được xác định.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700
- Máy ly tâm
- Hóa chất làm xét nghiệm GLDH (hãng Randox)
- Huyết thanh kiểm tra mức 1 (QC mức bình thường)
- Huyết thanh kiểm tra mức 2 (QC mức bệnh lý)
- Chuẩn Randox
- Nước cất

3. Người bệnh

4. Phiếu xét nghiệm

Ghi đầy đủ thông tin cần thiết: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

II. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin, EDTA, oxalat, citrat.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Ly tâm ống máu trong 5 phút với vận tốc 3000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.
- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy Beckman Coulter.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.

- Kiểm soát chất lượng:

- + Hàng ngày: Chạy 2 mức kiểm QC tra chất lượng hàng ngày vào buổi sáng và ít nhất sau mỗi 8 tiếng. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức QC nằm trong khoảng cho phép.
- + 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 chuẩn máy XN.

III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

Hoạt độ GLDH ở người lớn: Nam: ≤ 5.0 U/L

Nữ : ≤ 7.0 U/L

2. Ý nghĩa lâm sàng

GLDH đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán phân biệt bệnh của gan, đặc biệt khi kết hợp với aminotransferase. Sự tăng hoạt độ GLDH gặp trong bệnh gan có hoại tử tế bào gan nặng như bệnh gan thiếu oxy, tổn thương gan do nhiễm độc.

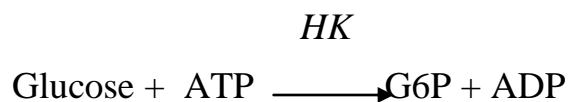
IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

75. ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE

I. NGUYÊN LÝ

Glucose là carbohydrate quan trọng nhất lưu hành trong máu ngoại vi. Quá trình đốt cháy glucose là nguồn chính cung cấp năng lượng cho tế bào.

Glucose máu được định lượng theo phương pháp động học có sự tham gia của enzyim hexokinase:



Đo tốc độ tăng mật độ quang của NADPH ở bước sóng 340 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: buffer, NADP ...

R 2: HK, G6PDH...

Bảo quản ở 2-8⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 12 tuần khi để trên máy phân tích.

Các loại dung dịch hệ thống khác:

- Chuẩn, nước muối sinh lý
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh

Được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

4. Phiếu xét nghiệm

Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương. Bệnh phẩm phải được ly tâm tách lấy huyết thanh, huyết tương ngay. Bảo quản ở 15-25⁰C trong vòng 8 giờ, ở 2-8⁰C được 72 giờ. Rã đông một lần.

Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường:

- + Người lớn: 3.9 – 6.4 mmol/l
- + Trẻ em: 3.3 – 5.6 mmol/l
- + Trẻ sơ sinh: 2.2 – 4.4 mmol/l

- Glucose máu tăng trong:

- + Đái tháo đường
- + Viêm tụy, ung thư tụy.
- + U tủy thượng thận.
- + Cường giáp.

- Glucose máu giảm trong:

- + Suy tuyến yên, suy tuyến giáp.
- + Bệnh Insulinoma.
- + Thiếu dinh dưỡng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|---|--|--|
| Bệnh phẩm để lâu không ly tâm và định lượng ngay gây hiện tượng hủy đường | Làm giảm kết quả. Sau 1 giờ giảm khoảng 7% | Sử dụng chất chống đông NaF để tránh hủy đường |
| Lấy máu sau ăn | Làm tăng kết quả | Làm lại mẫu lúc đói |
| Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc | Kết quả ảnh hưởng không rõ | |
| Nồng độ > dải đo (0,11- 41,6 mmol/L) | Sai lệch kết quả. Rất ít gặp | Pha loãng bệnh phẩm |

76. ĐỊNH LƯỢNG GLOBULIN

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng Globulin trong máu của người bệnh bằng cách tính toán dựa trên thông số về định lượng Protein toàn phần và Albumin.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Protein toàn phần và Albumin, chất chuẩn Protein toàn phần và Albumin, chất kiểm tra chất lượng Protein toàn phần và Albumin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin, EDTA, không sử dụng chất chống đông Fluorid. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 5 tháng ở 2-8°C, 2.5 tháng ở 15 - 25°C. 4 tháng ở -15 đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 01 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh. Kết quả nếu không được máy tự động tính toán thì tính theo công thức sau:

Globulin = Protein toàn phần - Albumin

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 34 – 48 g/l.
- Globulin máu tăng trong: Các trường hợp viêm cấp hoặc mạn, Đa u tủy xương...
- Globulin máu giảm trong: Trường hợp suy giảm miễn dịch, Bỏng nặng...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

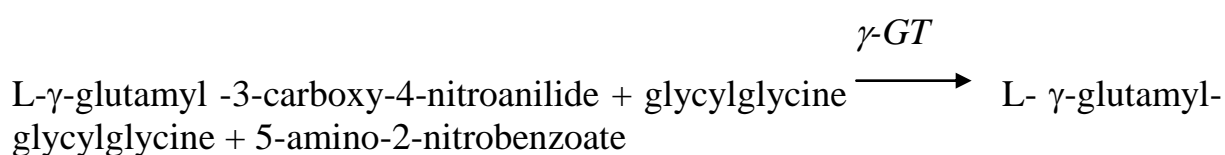
Là những sai sót có thể gặp phải khi định lượng Protein toàn phần và Albumin.

77. ĐO HOẠT ĐỘ GGT (Gamma glutamyl transpeptidase)

I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ GGT cho phép phát hiện các người bệnh nghiện rượu (GGT tăng cùng với thiếu máu hồng cầu to và tăng acid uric), theo dõi tình trạng ứ mật, theo dõi tình trạng cai rượu ở người bệnh nghiện rượu. GGT được chỉ định phối hợp với phosphatase kiềm để xác định tăng phosphatase kiềm trong bệnh xương hay gan.

Hoạt độ của enzym GGT trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym. Theo phương trình phản ứng sau:



II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh của hãng Roche (MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).

- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000 μ l, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, cồn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.
- Găng tay

2.2. Hoá chất

- Hoá chất làm xét nghiệm GGT của hãng ROCHE, OLYMPUS.
- Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.
- Chuẩn của GGT

2.3. Bệnh phẩm

- Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông

- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh

- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 7 ngày ở nhiệt độ 2-8⁰C và 1 năm ở nhiệt độ (-15)-(-25)⁰C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm GGT trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi giá trong chương trình cài đặt.

- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.

- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm đo hoạt độ GGT được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.

- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

- Nam: 8 – 61 U/L

- Nữ: 5 – 36 U/L

2. GGT máu có thể tăng trong các nguyên nhân chính sau đây

- Bệnh lý gan, mật (viêm gan cấp và mạn, viêm gan nhiễm trùng, viêm gan do rượu, xơ gan, ung thư gan, vàng da ứ mật, thoái hóa mỡ xơ gan...)

- Các thâm nhiễm gan: tăng lipid máu, u lympho, kén sán lá gan, lao, bệnh sarcoidose, áp xe, ung thư di căn gan.
- Bệnh lý ứ mật: xơ gan do mật tiên phát, viêm đường mật xơ hóa, sỏi mật, ung thư biểu mô đường mật.
- Các tổn thương tụy tạng: Viêm tụy cấp, viêm tụy mạn, ung thư tụy, u bóng Vater.
- Các tổn thương thận: Hội chứng thận hư, ung thư biểu mô thận.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

- * Khi thấy kết quả GGT bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:
 - + Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường về màu sắc huyết tương hay không?
 - + Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán
 - + Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...
 - Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.
- * Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:
 - Máu vỡ hồng cầu
 - Các chất có thể làm tăng hoạt độ GGT: Rượu, aminoglycosid, barbiturat, thuốc kháng H₂, thuốc chống viêm không phải steroid, phenytoin, thuốc ngừa thai uống, thuốc chống trầm cảm.
 - Các thuốc có thể làm giảm hoạt độ GGT: Clofibrat.

78. ĐỊNH LƯỢNG GLP-1 TOÀN PHẦN (Total Glucagon-like peptid-1)

GLP-1 có tiền chất là proglucagon, có thời gian bán hủy dưới 2 phút. Nguồn chính của GLP-1 trong cơ thể là các tế bào L của ruột tiết GLP-1 như một hormone ruột. Nó là một hormone chống tăng đường huyết mạnh, như một phương pháp điều trị tiềm năng của bệnh đái tháo đường với các chức năng sinh lý sau: tăng tiết insulin từ tuyến tụy, giảm tiết glucagon từ tuyến tụy, tăng độ nhạy insulin trong cả hai tế bào alpha và beta, tăng khối lượng các tế bào beta và tiết insulin, ức chế tiết acid dạ dày đồ trong dạ dày, làm giảm lượng thức ăn bằng cách tăng cảm giác no trong não, thúc đẩy sự nhạy cảm insulin.

I. NGUYÊN LÝ

- Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng GLP-1 toàn phần trong huyết tương
- Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên - kháng thể theo **phương pháp sandwich**: Standard, control và mẫu được thêm vào các giếng đã được phủ với streptavidin. Sau đó, hỗn hợp kháng thể bắt giữ và kháng thể đánh dấu được thêm vào các giếng. Sau khi ủ, một phức hợp miễn dịch “sandwich” được hình thành là “Streptavidin-kháng thể bắt giữ -GLP-1-kháng thể đánh dấu” gắn chặt lên đĩa. Các thành phần không kết hợp sẽ được rửa đi. Để phát hiện được phức hợp miễn dịch này, cơ chất sẽ được thêm vào, rồi thêm dung dịch ngừng phản ứng vào. Độ đậm độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ GLP-1 toàn phần trong mẫu, được đo ở bước sóng 450 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh được đào tạo với máy Evolis Twin Plus.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng DGR, Đức (EIA-5095)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Dung dịch hòa loãng kháng thể đánh dấu
- + Chuẩn: 5 lọ
- + Cơ chất TMB
- + Control cao và thấp

- + Dung dịch rửa
- + Kháng thể đánh dấu
- + Dung dịch ngừng phản ứng
- + Kháng thể bắt giữ

Trong đó TMB: 3,3',5,5' tetramethyl-benzidine

Kháng thể đánh dấu là kháng thể liên hợp HRP (Horseradish Peroxidase)

Kháng thể bắt giữ là kháng thể liên hợp biotin

- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp

+ Pipet chính xác 25 μ l, 50 μ l, 100 μ l, và 1000 μ l

+ Các tube

+ Đầu côn pipet dùng một lần

+ Nước cất

+ Chất ức chế DPP - 4 ([dipeptidyl peptidase 4](#)): có tác dụng tăng GLP-1, giảm glucagon và lượng đường trong máu.

3. Người bệnh

Người bệnh lúc *đói và no ảnh hưởng* đến kết quả xét nghiệm (đói cho kết quả thấp hơn khi no)

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

III. Các bước tiến hành

1. Lấy bệnh phẩm

- Sử dụng huyết tương chống đông bằng EDTA
- Khuyến cáo thêm một lượng thích hợp chất ức chế DPP-4 vào máu toàn phần EDTA đã thu thập. Đảo ngược ống để trộn đều và đặt ống vào bồn nước đá. Ly tâm ống 3000 vòng/phút trong 10 phút trên máy ly tâm lạnh.
- Mẫu nên được lưu trữ ở 2 - 8° C nếu được làm trong vòng 3 giờ từ khi thu thập, lâu hơn thì lưu trữ ở -70° C. Chỉ rã đông một lần.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

2.1.1. Dung dịch rửa

Hòa 20 ml dung dịch rửa với 580 ml nước cất để được dung dịch 600 ml.

Sau khi pha, ổn định đến ngày hết hạn ở nhiệt độ phòng.

2.1.2. Chuẩn

- S1 – S5 với các nồng độ lần lượt : 0 pmol/L; 2,1 pmol/L; 6,0 pmol/L; 17,3 pmol/L; 54,0 pmol/L
- Ổn định đến ngày hết hạn khi bảo quản ở 2 – 8° C

2.1.3. Control

- Control mức thấp : 4,1 pmol/L và control mức cao: 13,7 pmol/L
- Ổn định đến ngày hết hạn khi bảo quản ở 2 – 8° C

2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng **1465 phút** (gần 25 giờ)
- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

* Các bước tiến hành như sau:

+ Sử dụng số giếng cần thiết để vẽ đường cong chuẩn (S), control (C) và đo mẫu:

| Hàng | Dãi 1 | Dãi 2 | Dãi 3 |
|------|-------|-------|-------|
| A | S1 | S5 | Mẫu 2 |
| B | S1 | S5 | Mẫu 2 |
| C | S2 | C 1 | Mẫu 3 |
| D | S2 | C 1 | Mẫu 3 |
| E | S3 | C 2 | Mẫu 4 |
| F | S3 | C 2 | Mẫu 4 |
| G | S4 | Mẫu 1 | |
| H | S4 | Mẫu 1 | |

+ Chuẩn bị hỗn hợp kháng thể GLP-1 toàn phần bằng cách trộn kháng thể đánh dấu với kháng thể bắt giữ (cả hai kháng thể đã pha loãng với dung dịch pha loãng kháng thể đánh dấu theo tỉ lệ 1:21)

Mỗi dải: trộn 1 ml dung dịch pha loãng kháng thể đánh dấu với 50 μ l kháng thể bất giữ và 50 μ l kháng thể đánh dấu vào tube sạch

- + Hút 100 μ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- + Hút 100 μ l hỗn hợp kháng thể cho tiếp vào các giếng.
- + Phủ giấy kín và ủ ở 2 – 8° C trong 20 – 24 giờ
- + Lấy giấy phủ ra, loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 5 lần với 350 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 200 μ l cơ chất TMB vào mỗi giếng.
- + Ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng
- + Hút 50 μ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng, trộn đều
- + Tiến hành đo với bước sóng kép 450/620 nm hoặc 450/650 nm trong 10 phút

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham khảo:

Khi đói: 0,3 - 18,5 pmol/L (nhịn tối thiểu 12h)

Khi ăn bình thường : 2,1 - 24,7 pmol/L

- Ý nghĩa lâm sàng: GLP-1 được ứng dụng trong điều trị và theo dõi bệnh đái tháo đường vì GLP-1 có tác dụng hạ đường huyết.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Mẫu có kết quả vượt quá 54 pmol/L thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch hòa loãng.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

79. ĐỊNH LƯỢNG GENTAMICIN

I. NGUYÊN LÝ

Gentamicin là kháng sinh thuộc nhóm Aminoglycosid có tác dụng diệt khuẩn do ức chế quá trình sinh tổng hợp protein của vi khuẩn.

Gentamicin trong huyết thanh hoặc huyết tương được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang, là xét nghiệm một bước.

Mẫu bệnh phẩm, anti-gentamicin phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp gentamicin có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng. Anti-gentamicin phủ trên vi hạt thuận từ gắn với gentamicin có trong mẫu và chất kết hợp có đánh dấu acridinium.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng gentamicin trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Gentamicin, chất chuẩn Gentamicin, chất kiểm tra chất lượng Gentamicin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Sodium EDTA (dùng cho ống nhựa). Nếu lấy máu bằng ống thủy tinh, có thể dùng các chất chống đông Li, Na-Heparin và K2-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ở 15 - 30°C, 7 ngày ở 2–8°C, bảo quản lâu hơn ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Gentamicin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Gentamicin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Gentamicin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Liều điều trị thường có nồng độ ở mức 5- 10 µg/mL.
- Nồng độ Gentamicin ở mức >10 µg/mL kéo dài, gây ngộ độc thần kinh và thận. Nếu sử dụng kết hợp với Aminoglycoside, khả năng ngộ độc sẽ tăng lên.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 20 mg/dL .
 - + Tán huyết: Hemoglobin <500 mg/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 3000 mg/dl.
 - + RF <634 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).

80. ĐỊNH LƯỢNG HAPTOGLOBULIN

I. NGUYÊN LÝ

Haptoglobin là mucoprotein thuộc nhóm globulin α_2 , có khả năng kết hợp với hemoglobin. Xét nghiệm haptoglobin thường chỉ định trong các bệnh nhiễm khuẩn, bệnh máu...

Haptoglobin trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp miễn dịch đo độ đục.

Kháng thể kháng Haptoglobin trong thuốc thử kết hợp với Haptoglobin trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ Haptoglobin có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Hitachi 904, 912, MODULAR P...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Haptoglobin, chất chuẩn Haptoglobin, chất kiểm tra chất lượng Haptoglobin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin hay EDTA hay Citrat. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 8 tháng ở 2-8°C, 3 tháng ở 15°C đến 25°C.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Haptoglobulin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Haptoglobulin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Haptoglobulin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu: 3.0 - 20.0 $\mu\text{mol/L}$

Haptoglobulin được xét nghiệm chủ yếu để chẩn đoán và theo dõi thiếu máu do tan máu. Trong trạng thái bệnh lý này nồng độ Haptoglobulin trong máu giảm.

- Haptoglobin tăng trong: Nhiễm trùng cấp và mạn, Thấp khớp cấp, viêm phổi, sau nhồi máu cơ tim, có thai...
- Haptoglobin giảm trong: Thiếu máu tan máu, không có Haptoglobin bẩm sinh, chứng loạn nguyên hồng cầu ở trẻ sơ sinh, bệnh hồng cầu hình liềm, thiếu hụt enzym G6-PD, bệnh gan, lupus ban đỏ hệ thống....

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi:

- + Huyết thanh vàng : Bilirubin $< 1026 \mu\text{mol/L}$
- + Huyết thanh đục: Triglycerid $< 1000 \text{ mg/dL}$
- + Yếu tố thấp $< 100 \text{ IU/mL}$
- + Không có hiệu ứng nồng độ cao khi Haptoglobin $< 120 \mu\text{mol/L}$

- 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).

81. ĐỊNH LƯỢNG HBsAg

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng HBsAg trong huyết thanh hoặc huyết tương ngoài mục đích xác định tình trạng nhiễm HBsAg, nó còn đóng vai trò quan trọng trong việc theo dõi điều trị người bệnh bị viêm gan siêu vi B (kết hợp với kết quả PCR DNA định lượng).

Xét nghiệm định lượng HBsAg là xét nghiệm miễn dịch hai bước sử dụng công nghệ vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm linh hoạt để định lượng HBsAg trong huyết thanh và huyết tương người. Ở bước một HBsAg có trong mẫu thử gắn với các vi hạt phủ kháng thể kháng HBsAg. Sau khi rửa, chất kết hợp kháng thể kháng HBsAg có đánh dấu acridinium được cho vào ở bước hai. Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng HBsAg trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện. Nồng độ HBsAg trong mẫu được xác định bằng cách sử dụng đường cong chuẩn HBsAg đã được thiết lập trước đó.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: Bác sĩ và cử nhân xét nghiệm được đào tạo vận hành máy Architect.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy Architect ir1000

- Ống nghiệm (EDTA, sodium heparin, lithium heparin), ống không dùng chất chống đông.

2.2. Hóa chất

Bộ thuốc thử, 100 test ARCHITECT HBsAg

- **CÁC VI HẠT:** 1 chai (6,6 mL) Anti- HBsAg (chuột, kháng thể đơn dòng, IgM, IgG) phủ vi hạt trong dung dịch đệm MES với chất ổn định protein. Nồng độ tối thiểu: 0,0675% rắn.
- **CHẤT KẾT HỢP:** 1 chai (5,9 mL) Anti-HBsAg có đánh dấu acridinium (Dê,IgG) trong dung dịch đệm MES với chất ổn định protein (bò và huyết tương người) không có phản ứng với HBsAg, HIV-1 RNA hay anti-HIV-1/ HIV-2 và anti-HCV. Nồng độ tối thiểu: 0,25µg/mL.

- DUNG DỊCH HÒA LOÃNG: 1 chai (100 mL). Chất pha loãng xét nghiệm chứa huyết tương người đã tái tạo canxi không có phản ứng với HBsAg, HIV-1 RNA hay anti-HIV-1/ HIV-2 và anti-HCV.

3. Người bệnh

- Những người bệnh nghi ngờ nhiễm virus viêm gan B.
- Người tình nguyện hiến máu, kiểm tra sức khỏe.
- Theo dõi tình trạng nhiễm HBsAg người bệnh

4. Phiếu xét nghiệm

Thông nhất theo mẫu quy định của bệnh viện và Bộ Y tế.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Bệnh phẩm

1.1. Loại mẫu

- Huyết thanh, Huyết tương (potassium EDTA, sodium citrate)
- Các chất chống đông lỏng có thể gây pha loãng dẫn đến làm nồng độ mẫu người bệnh thấp.

1.2 Điều kiện mẫu

- Không sử dụng các mẫu sau: bị bất hoạt do nhiệt, bị tán huyết.
- Để có kết quả xác thực: mẫu huyết thanh và huyết tương không nên có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả. Đối với những mẫu mới đã đông nên chuyển mẫu sang ống ly tâm và ly tâm ở ≥ 10.000 RCF (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cup đựng mẫu để chạy xét nghiệm.
- Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.

1.3. Bảo quản

Mẫu có thể được bảo quản 14 ngày ở nhiệt độ 2-8°C trước khi xét nghiệm. Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 14 ngày, tách huyết thanh hay huyết tương sang cup có nắp đậy và bảo quản đông lạnh ở $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT HBsAg vào máy Architect.
- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.

- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy lại.
- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng

- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng HBsAg ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.
- Yêu cầu về lượng mẫu của mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng ARCHITECT HBsAg, giữ chai theo chiều thẳng đứng và nhỏ 10 giọt mẫu chuẩn (hai lần chạy lặp lại) hay 6 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng (cho một lần chạy lặp lại) vào từng cúp đựng mẫu tương ứng.
- Khoảng hiệu chuẩn: 0 - 250 IU/mL. Khi đường cong chuẩn ARCHITECT HBsAg được chấp nhận và lưu lại, không cần thực hiện hiệu chuẩn cho tất cả các mẫu xét nghiệm sau đó, trừ khi:
 - + Sử dụng lô thuốc thử mới.
 - + Mẫu kiểm tra chất lượng cho kết quả nằm ngoài giới hạn.
- Nạp mẫu và nhấn nút RUN.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Định lượng HBsAg trong huyết thanh hoặc huyết tương ngoài mục đích xác định tình trạng nhiễm HBsAg, nó còn đóng vai trò quan trọng trong việc theo dõi điều trị người bệnh bị viêm gan siêu vi B (kết hợp với kết quả PCR DNA định lượng)

- Mẫu với nồng độ có giá trị $< 0,05$ IU/mL được xem là không có phản ứng.
- Mẫu với nồng độ có giá trị $\geq 0,05$ IU/mL được xem là có phản ứng
- Nếu nồng độ HBsAg >250 IU/mL thì cần phải pha loãng. Dùng dung dịch pha loãng riêng dành cho xét nghiệm định lượng HBsAg.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nếu kết quả xét nghiệm HBsAg không phù hợp với các dấu hiệu lâm sàng thì cần làm thêm xét nghiệm để khẳng định kết quả.
- Vì mục đích chẩn đoán, sử dụng kết quả kết hợp với tiền sử bệnh và các dấu ấn viêm gan khác để chẩn đoán tình trạng nhiễm cấp hay mãn tính.
- Mẫu lấy từ người bệnh dùng thuốc chống đông hay tan huyết khối có thể làm tăng thời gian hình thành cục máu đông. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả.
- Mẫu máu từ người bệnh có điều trị heparin có thể bị đông máu từng phần và sự xuất hiện của fibrin có thể dẫn đến sai số. Để tránh trường hợp này, nên lấy máu trước khi dùng liệu pháp heparin.

82. ĐO HOẠT ĐỘ HBDH (Hydroxybutyrat dehydrogenase)

I. NGUYÊN LÝ

HBDH xúc tác phản ứng thuận nghịch khử 2-oxobutyrat bởi NADH thành 2-hydroxybutyrat, sự giảm nồng độ NADH được đo ở bước sóng 340nm và tỷ lệ thuận với hoạt độ HBDH trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700
- Máy ly tâm
- Hóa chất làm xét nghiệm Lactat (hãng Olympus)
- Huyết thanh kiểm tra mức 1 (QC mức bình thường)
- Huyết thanh kiểm tra mức 2 (QC mức bệnh lý)
- Chuẩn Olympus System Calibrator Cat No.66300
- Nước cất

3. Người bệnh

4. Phiếu xét nghiệm

Ghi đầy đủ thông tin cần thiết: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết tương chống đông bằng heparin hoặc huyết thanh.
- Mẫu ổn định: ổn định trong 4 ngày khi bảo quản tại 2 đến 8°C và 7 ngày khi bảo quản tại 15 đến 25°C.
- Không sử dụng mẫu huyết tán.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Ly tâm ống máu trong 5 phút với vận tốc 3000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.

- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy Beckman Coulter.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:

+ Hàng ngày: Chạy 2 mức kiểm QC tra chất lượng hàng ngày vào buổi sáng và ít nhất sau mỗi 8 tiếng. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức QC nằm trong khoảng cho phép.

+ 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 chuẩn máy xét nghiệm.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

Hoạt độ HBDH người lớn: 90- 180 U/L

2. Ý nghĩa lâm sàng

Hoạt độ HBDH, tỷ lệ LDH/HBDH được xem như phương pháp thay thế cho đánh giá các isoenzym của LDH. Người bình thường, tỷ lệ LDH/HBDH giao động từ 1.2- 1.6. Trong nhồi máu cơ tim, hoạt độ LDH-1 và LDH-2 tăng, dẫn đến giảm tỷ lệ LDH/HBDH còn từ 0.8- 1.2. Người bệnh có tổn thương các mô làm tăng LDH5 sẽ làm tỷ lệ LDH/HBDH tăng từ 1.6- 2.5.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

Mẫu huyết tán làm kết quả tăng giả tạo.

83. ĐỊNH LƯỢNG HbA1c (Hemoglobin A1c)

I. NGUYÊN LÝ

Hemoglobin (Hb) là protein có cấu trúc bậc bốn hoàn chỉnh của hồng cầu. Hb có chức năng vận chuyển oxy từ phổi tới tổ chức và CO_2 từ tổ chức tới phổi. Nồng độ glucose của hồng cầu cũng tương đương với nồng độ glucose trong huyết tương của máu. Khi nồng độ glucose máu tăng cao hơn mức bình thường trong một khoảng thời gian đủ dài, glucose sẽ kết hợp với hemoglobin gọi là phản ứng glycosyl hoá (hay Glycosylated Haemoglobin). Nhóm aldehyd tự do của phân tử glucose kết hợp với phân tử Hb của hồng cầu thông qua Valin (một amino acid ở phần cuối của chuỗi beta) tạo ra sản phẩm trung gian là Aldimin, sau đó Aldimin sẽ được chuyển thành HbA1c theo sự chuyển Amadori không đảo ngược. Đường đơn trong máu chủ yếu là glucose do vậy thành phần chủ yếu của HbA1 là HbA1c (70%). Do vậy HbA1c có giá trị chuyên biệt hơn HbA1a1, HbA1a2, HbA1b nói riêng và HbA1 nói chung. Tình trạng gắn kết này sẽ thể hiện trong suốt đời sống của hồng cầu.

Nguyên lý định lượng HbA1c:

Dựa trên nguyên lý sắc ký lỏng áp lực cao (HPLC) .

Gồm- Pha tĩnh: là chất rắn

- Pha động là chất lỏng di chuyển dưới tác động của áp suất cao.
- Mẫu phân tích: Được hòa tan trong pha động

Dựa vào ái lực khác nhau giữa các chất cần xác định với pha tĩnh và pha động mà chúng được tách nhau ra nhờ thay đổi độ phân cực của dung môi pha động cùng với cột tách thích hợp việc định lượng được thực hiện nhờ phương pháp ngoại chuẩn (so sánh mẫu với mẫu thêm chuẩn đã biết hàm lượng trong cùng điều kiện phân tích. Đây là phương pháp hữu hiệu trong định lượng các chất hữu cơ có nhiệt phân hủy thấp)

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

Một số máy phân tích HbA1c tự động theo nguyên lý HPLC: máy Utral 2, máy D10, máy variant (Hoa kỳ sản xuất) và một số máy khác.

2.2. Hóa chất

- Gồm: dung dịch 2A; Dung dịch B; dung dịch pha loãng, dung dịch rửa, peek column-HbA1c, fit, 2 micron, 5/µk cho GH,
- Vật liệu cho QC: gồm 2 mức: thấp và cao

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm có chất chống đông EDTA
- Găng tay
- Bông, cồn sát trùng, dây garo
- Bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng.

4. Phiếu xét nghiệm

Có y lệnh của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Không có quy định nghiêm ngặt về thời điểm lấy máu (lúc no, lúc đói đều được).
- Lấy khoảng 2 mL máu toàn phần vào ống có chất chống đông EDTA.
- Bảo quản máu để làm xét nghiệm đơn giản và được lâu (ở nhiệt độ 2- 8°C có thể bảo quản được một tuần).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

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

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu máu toàn phần được trộn đều đặt vào Rack đựng bệnh phẩm. dùng mã vạch (barcode) hoặc đánh số (hoặc ID của người bệnh); vận hành theo protocol của máy và máy sẽ tự động phân tích

III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị bình thường của HbA_{1C} là 4- 6 % (tăng khi > 6,5%).
- Tỷ lệ tương đối giữa trị số HbA_{1c}, nồng độ glucose và Fructosamine máu

| HbA1c | Glucose máu | Fructosamine |
|--------------|--------------------|---------------------|
| % | (mmol/L) | (μ mol/L) |
| 4 | 3,3 | 141 |
| 5 | 5,0 | 200 |
| 6 | 6,7 | 258 |
| 7 | 8,3 | 317 |
| 8 | 10,0 | 375 |
| 9 | 11,7 | 435 |
| 10 | 13,3 | 494 |
| 11 | 15,0 | 552 |
| 12 | 16,7 | 611 |
| 13 | 18,3 | 670 |
| 14 | 20,0 | 729 |

IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- HbA1c có thể “tăng giả”

PreHbA1c; HbF; Hội chứng ure máu cao (cơ chế: do Hb bị carbamyl hóa);...

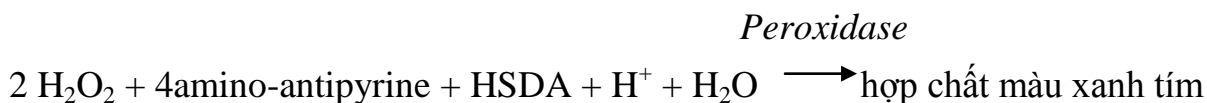
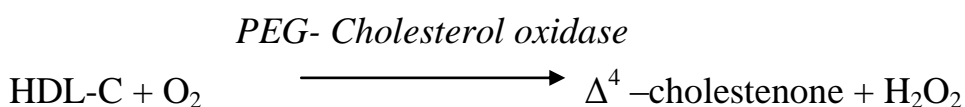
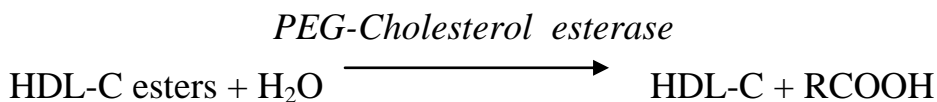
- HbA1c có thể “giảm giả”

Các bệnh làm giảm đời sống HC: huyết tán (tan máu); Thiếu máu mạn hoặc cấp; Xuất huyết tiêu hoá, sau trích máu điều trị; Nhiễm sắc tố sắt; Hemoglobine bất thường (VD: HbH, HbS, HbD, HbE, HbC)...

84. ĐỊNH LƯỢNG HDL-C

I. NGUYÊN LÝ: HDL-C (High Density Lipoprotein cholesterol) là thành phần vận chuyển cholesterol từ máu về gan. Nồng độ HDL-C máu có liên quan đến nguy cơ mắc chứng xơ vữa động mạch. Làm tăng nồng độ HDL là góp phần điều trị bệnh lý tim mạch.

HDL-C được định lượng theo phương pháp enzyme so màu



PEG: polyethylene glycol

HSDA: Sodium N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: dextran sulfate, magnesium nitrat hexahydrate, peroxidase ...

R 2: PEG-C esterase, PEG-C oxidase, 4amino-antipyrine, peroxidase ...

Bảo quản ở 2-8⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 12 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, NaCl 9%
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

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

- 4. Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 7 ngày, ở - 60⁰C được 1 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: $\geq 0,9$ mmol/L
- HDL-C giảm là một trong những yếu tố dự báo nguy cơ bệnh xơ vữa động mạch, bệnh tim mạch.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|--|-------------------------|----------------------------|
| Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng EDTA | Có thể làm giảm kết quả | Không sử dụng loại ống này |
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin tăng, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc | Kết quả ít bị ảnh hưởng | |
| Nồng độ > dải đo (0,08-3,12 mmol/L) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |

85. ĐỊNH LƯỢNG HE4 (Human Epididymal protein 4)

I. NGUYÊN LÝ

HE4 là protein mào tinh người, nó là glycoprotein có trọng lượng phân tử 11 kD. Nồng độ HE4 tăng cao trong máu người bệnh ung thư buồng trứng.

HE4 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. HE4 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng HE4 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng HE4 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ HE4 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm HE4, chất chuẩn HE4, chất kiểm tra chất lượng HE4.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có chứa Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông Li-Heparin, K2 và K3 EDTA. Nếu bệnh phẩm được phân tích trên máy Architect thì yêu cầu sử dụng huyết thanh.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hay huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 5 giờ ở 15 - 25°C, 48 giờ ở 2-8°C, 3 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm HE4. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm HE4. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm HE4 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

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 CA 125. 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 CA 125 định lượng được để tính PI (Chỉ số tiên đoán) và ROMA (Xác suất tiên đoán) để phân tầng nguy cơ cho người bệnh.

Tính PI theo công thức:

Tiền mãn kinh: $PI = -12.0 + 2.38 * \ln[HE4] + 0.0626 * \ln[CA125]$

Sau mãn kinh: $PI = -8.09 + 1.04 * \ln[HE4] + 0.732 * \ln[CA125]$

trong đó, LN = Logarithm tự nhiên. Không sử dụng LOG = Log10.

Tính ROMA theo công thức:

$ROMA (\%) = \exp(PI) / [1 + \exp(PI)] * 100$

trong đó, $\exp(\text{PI}) = e^{\text{PI}}$

Lưu ý: Các công thức này được sử dụng để tính toán giá trị ROMA với xét nghiệm Elecsys HE4 từ 28.8-3847 pmol/L và với xét nghiệm Elecsys CA 125 II từ 6.42-5000 U/mL.

Dựa trên giá trị ROMA, phân tầng nguy cơ cho người bệnh như sau:

Phụ nữ tiền mãn kinh

Giá trị ROMA $\geq 11.4\%$ = nguy cơ cao ung thư buồng trứng

Giá trị ROMA $< 11.4\%$ = nguy cơ thấp ung thư biểu mô buồng trứng

Phụ nữ sau mãn kinh

Giá trị ROMA $\geq 29.9\%$ = nguy cơ cao ung thư buồng trứng

Giá trị ROMA $< 29.9\%$ = nguy cơ thấp ung thư biểu mô buồng trứng

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL hay 1130 $\mu\text{mol/L}$.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.0 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.

+ Biotin < 50 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ sFlt-1 tới $40\,000$ pmol/L.

+ 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).

86. ĐỊNH LƯỢNG HOMOCYSTEIN

Homocystein (Hcy) là một acid amin chứa gốc sulfur được hình thành trong quá trình chuyển đổi methiomin thành cystein - Methionin là một trong các acid amin thiết yếu (acid amin không thay thế) không tự tổng hợp được mà phải lấy từ nguồn thức ăn. Methionin và Hcy tích lũy lại trong cơ thể dẫn đến nồng độ Hcy trong máu và nước tiểu tăng cao. Người bệnh có Hcy niệu có thể có biến dạng xương, bệnh lý ở mắt, chậm phát triển tinh thần, gan thoái hóa mỡ. Có nguy cơ cao bị huyết khối tĩnh mạch, vỡ xơ động mạch và dễ bị các bệnh tim mạch.

I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên nguyên lý miễn dịch sử dụng công nghệ hóa phát quang. Để xác định nồng độ Hcy toàn phần trong huyết thanh/huyết tương theo phản ứng miễn dịch một bước. Kết quả phản ứng phát quang xảy ra, cường độ ánh sáng thu được tỷ lệ với nồng độ Homocystein có trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 kỹ thuật viên.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: architect I 2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, ống sample cup
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

- Vi hạt: 1 hoặc 4 lọ x 5 mL Kháng thể -S-adenosyl L-homocysteine được bao phủ trên bề mặt các vi hạt trong dung dịch đệm Bis-Tris buffer. Nồng độ tối thiểu: 0.1% solids; Chất bảo quản: sodium azide và các tác nhân kháng khuẩn khác.
- Conjugate: 1 hoặc 4 lọ x 5.7 mL S-adenosyl-L-cysteine (SAC) acridinium-được đánh dấu được gắn trên bề mặt trong dung dịch đệm citrate Nồng độ tối thiểu: 1 ng/mL và Chất bảo quản: ProClin 300.

- Enzym: 1 hoặc 4 lọ x 8.6 mL Recombinant S-adenosyl-L homocysteine hydrolase (SAHHase) in 4-(2-hydroxyethyl) piperazine- propane sulfonic acid (EPPS) buffer. Chất bảo quản: sodium azide.
- Reductant: 1 hoặc 4 lọ x 21.5 mL Dithiothreitol (DTT) trong dung dịch đệm citrate. Dung dịch hòa loãng chứa 100mL.
- ARCHITECT i Multi-Assay Manual Diluent có chứa dung dịch đệm phosphat. Chất bảo quản: các tác nhân kháng khuẩn.

Các loại thuốc thử, hóa chất khác:

- ARCHITECT i Pre-Trigger Solution: Pre-trigger solution có chứa 1.32% hydrogen peroxide.
- ARCHITECT i Trigger Solution: có chứa 0.35 N sodium hydroxide.
- ARCHITECT I wash bufer: Wash buffer có chứa đệm phosphate. Chất bảo quản: là các tác nhân kháng khuẩn.

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay, dây garo
- Bông, cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm.

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng.

4. Phiếu xét nghiệm

Có y lệnh của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. **Lấy bệnh phẩm:** 3ml máu tĩnh mạch lấy vào ống chống đông Lithium - heparin.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2giờ

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và vận hành theo protocol của máy

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

***Trị số bình thường**

Nam: 7,4 – 15,7 $\mu\text{mol/L}$ (1-2,12mg/L)

Nữ: 3,9 – 14,8 $\mu\text{mol/L}$ (0,53 – 2mg/L)

***Tăng**

- Yếu tố nguy cơ mắc bệnh tim mạch
- Đái Hcy bẩm sinh
- Hút thuốc lá
- Thiếu hụt các vitamin B₆; B₁₂; acid folic

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Các yếu tố gây nhiễu

- Trị số Hcy có thể tăng ở người có tuổi và hút thuốc
- Một số thuốc có thể làm tăng nồng độ Hcy như: carbamafepin, cycloserin, Methotrexat, Penicillamin, Phenytoin, Procarbafin.

87. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN- 1 α (IL-1 α)

I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm miễn dịch IL-1 α dựa trên nguyên lý “sandwich” hóa phát - quang miễn dịch nhằm mục đích tìm nồng độ IL-1 α trong huyết thanh và huyết tương người

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** Người thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất

Bộ kit bao gồm

| | | |
|---|--|-------------|
| - | CTK DIL ASY | 1 x 14ml |
| - | CTK CONJ | 1 x 20 ml |
| - | CTK BIOCHIP | 54 biochips |
| - | CTK CAL | 9 x 1ml |
| - | REAG SGNL-EV701 | 2 x 10 ml |
| - | BUF WASH (conc.) | 1 x 32 ml |
| - | Calibrator concentration Disc và Barcode | 1 |

3. **Người bệnh:** Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm.

4. **Phiếu xét nghiệm:** Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm là huyết thanh hoặc huyết tương không tiêu huyết
- Việc lấy mẫu được thực hiện theo đúng hướng dẫn và đúng ống đựng mẫu, không rò rỉ hoặc thấm ra ngoài
- Những mẫu cần pha loãng phải được pha với dung dịch đệm rửa
- Nếu mẫu không được xét nghiệm ngay, cần phải bảo quản ở -20⁰C từng phần nhỏ, tránh rã đông nhiều lần

2. Tiến hành kỹ thuật

- Độ nhạy của máy là 0.8 pg/ml. với độ nhạy này thì nồng độ thấp nhất cho phép là $\leq 20\%$ cho 20 lần lặp lại.
- Khoảng phát hiện của phép thử: 0-500pg/ml. Tuy nhiên có thể thay đổi tùy vào lô chất hiệu chuẩn
- Ngoại kiểm tra: Lặp lại 20 lần cho một mẫu bệnh phẩm ở 3 mức nồng độ khác nhau (n=20)

| Nồng độ (pg/ml) | Level 1 | Level 2 | Level 3 |
|-----------------|---------|---------|---------|
| Mean | 4.9 | 105 | 339 |
| % CV | 9.7 | 7.7 | 6.8 |

- Nội kiểm tra chất lượng: Lặp lại 2 lần cho một mẫu bệnh phẩm ở 3 mức nồng độ khác nhau cho 10 xét nghiệm khác nhau (n=20)

| Nồng độ (pg/ml) | Level 1 | Level 2 | Level 3 |
|-----------------|---------|---------|---------|
| Mean | 4 | 76 | 277 |
| % CV | 10.7 | 5.9 | 7.3 |

- Các bước thực hiện:
- + Hút 200 ul dung dịch pha loãng vào mỗi giếng
- + Hút 100 ul dung dịch chuẩn, mẫu và chứng vào các giếng thích hợp
- + Hòa trộn dung dịch bằng cách gõ nhẹ vào các cạnh của đĩa
- + Đặt đĩa vào đế ủ lắc nhiệt. Ủ ở 37⁰C trong vòng 1 giờ và lắc 370 vòng/phút
- + Lấy khay chứa khỏi máy lắc. Loại bỏ dịch thừa
- + Rửa nhanh 2 lần với dung dịch đệm rửa khoảng 350 ul cho mỗi giếng, tránh nhiễm chéo giữa các giếng và dùng giấy thấm để thấm khô sau khi rửa
- + Hút 300 ul dung dịch conjugate vào mỗi giếng
- + Gõ nhẹ vào các cạnh của khay chứa để hòa trộn dung dịch
- + Đặt khay vào máy lắc nhiệt, Ủ trong vòng 1 giờ ở 37⁰C với tốc độ lắc 370 vòng/ phút
- + Sau đó, lấy khay ra khỏi máy lắc và loại bỏ dịch thừa
- + Lặp lại rửa 2 lần như trên
- + Sau khi rửa, làm đầy giếng với dung dịch đệm rửa và để cho thấm không quá 30 phút trước khi chụp hình

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

IL-1 α thường ít được phát hiện ngoại trừ bệnh nghiêm trọng khi các cytokines được giải phóng từ các tế bào chết. Mức độ IL-1 α tương quan đến mức độ trầm trọng của các bệnh viêm đường ruột, nhiễm trùng huyết...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Đây là phương pháp dùng trong nghiên cứu, không dùng trong chẩn đoán.
- Phương pháp điều tra dấu chứng Interleukin-1 α chỉ sử dụng trong phân tích mẫu huyết thanh và huyết tương người. Do đó những phân tích trên chất khác sẽ cho kết quả không chính xác (ví dụ như lỗi kỹ thuật hay lỗi phương pháp)
- Ảnh hưởng của Bilirubin, Hemoglobin, Triglycerides và Lipids gây nhiễu nồng độ IL-1 α và là nguyên nhân tăng hay giảm đường biểu diễn nồng độ trên biểu đồ.

88. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN- I β (IL-I β)

I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm miễn dịch IL-I β dựa trên nguyên lý “sandwich” hóa phát - quang miễn dịch nhằm mục đích tìm nồng độ IL-I β trong huyết thanh và huyết tương người

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** Người thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

2. **Phương tiện, hóa chất:**

Bộ kit bao gồm

| | |
|--|-------------|
| - CTK DIL ASY | 1 x 14ml |
| - CTK CONJ | 1 x 20 ml |
| - CTK BIOCHIP | 54 biochips |
| - CTK CAL | 9 x 1ml |
| - REAG SGNL-EV701 | 2 x 10 ml |
| - BUF WASH (conc.) | 1 x 32 ml |
| - Calibrator concentration Disc và Barcode | 1 |

3. **Người bệnh:** Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm.

4. **Phiếu xét nghiệm:** Có y lệnh của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm là huyết thanh hoặc huyết tương không tiêu huyết
- Việc lấy mẫu được thực hiện theo đúng hướng dẫn và đúng ống đựng mẫu, không rò rỉ hoặc thấm ra ngoài
- Những mẫu cần pha loãng phải được pha với dung dịch đệm rửa
- Nếu mẫu không được xét nghiệm ngay, cần phải bảo quản ở -20⁰C từng phần nhỏ, tránh rã đông nhiều lần

2. Tiến hành kỹ thuật

- Độ nhạy của máy là 1.6 pg/ml. với độ nhạy này thì nồng độ thấp nhất cho phép là $\leq 20\%$ cho 20 lần lặp lại.
- Khoảng phát hiện của phép thử: 0-250 pg/ml. Tuy nhiên có thể thay đổi tùy vào lô chất hiệu chuẩn
- Ngoại kiểm tra: Lặp lại 20 lần cho một mẫu bệnh phẩm ở 3 mức nồng độ khác nhau (n=20)

| Nồng độ (pg/ml) | Level 1 | Level 2 | Level 3 |
|-----------------|---------|---------|---------|
| Mean conc | 10.6 | 139 | 406 |
| % CV | 8.2 | 6.3 | 6.7 |

- Nội kiểm tra chất lượng: Lặp lại 2 lần cho một mẫu bệnh phẩm ở 3 mức nồng độ khác nhau cho 10 xét nghiệm khác nhau (n=20)

| Nồng độ (pg/ml) | Level 1 | Level 2 | Level 3 |
|-----------------|---------|---------|---------|
| Mean conc | 3.9 | 50.3 | 142 |
| % CV | 13.1 | 7.3 | 7 |

- Các bước thực hiện:
 - + Hút 200 ul dung dịch pha loãng vào mỗi giếng
 - + Hút 100 ul dung dịch chuẩn, mẫu và chứng vào các giếng thích hợp
 - + Hòa trộn dung dịch bằng cách gõ nhẹ vào các cạnh của đĩa
 - + Đặt đĩa vào để ủ lắ nhiệt. Ủ ở 37⁰C trong vòng 1 giờ và lắ 370 vòng/phút
 - + Lấy khay chứa khỏi máy lắ. Loại bỏ dịch thừa
 - + Rửa nhanh 2 lần với dung dịch đệm rửa khoảng 350 ul cho mỗi giếng, tránh nhiễm chéo giữa các giếng và dùng giấy thấm để thấm khô sau khi rửa
 - + Hút 300 ul dung dịch conjugate vào mỗi giếng
 - + Gõ nhẹ vào các cạnh của khay chứa để hòa trộn dung dịch
 - + Đặt khay vào máy lắ nhiệt, Ủ trong vòng 1 giờ ở 37⁰C với tốc độ lắ 370 vòng/phút
 - + Sau đó, lấy khay ra khỏi máy lắ và loại bỏ dịch thừa
 - + Lặp lại rửa 2 lần như trên
 - + Sau khi rửa, làm đầy giếng với dung dịch đệm rửa và để cho thấm không quá 30 phút trước khi chụp hình

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

IL-1 β được chứng minh ngăn cản việc tiết insulin và giảm hàm lượng insulin và glucagons do đó đóng vai trò quan trọng trong phát triển bệnh tiểu đường type I

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Đây là phương pháp dùng trong nghiên cứu, không dùng trong chẩn đoán
- Phương pháp điều tra dấu chứng Interleukin IA chỉ sử dụng trong phân tích mẫu huyết thanh và huyết tương người. Do đó những phân tích trên chất khác sẽ cho kết quả không chính xác (ví dụ như lỗi kỹ thuật hay lỗi phương pháp)
- Ảnh hưởng của Bilirubin, Hemoglobin, Triglycerides và Lipids gây nhiễu nồng độ IL-1 α và là nguyên nhân tăng hay giảm đường biểu diễn nồng độ trên biểu đồ.

89. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN 6

I. NGUYÊN LÝ

Interleukin 6 (IL-6) có nguồn gốc từ một số tổ chức: do các tế bào T và đại thực bào sản xuất để kích thích phản ứng miễn dịch; IL-6 được tổ chức cơ tiết ra và có thể tăng lên đáp ứng với sự co cơ. Ngoài ra, IL 6 có nguồn gốc từ các nguyên bào xương để kích thích tế bào hủy xương hình thành và từ các mạch máu cũng sản xuất IL-6 như một yếu tố tiền viêm cytokine. IL 6 có chức năng như một tiền viêm (các phản ứng giai đoạn cấp tính) và chống viêm cytokine, đóng một vai trò trong chống nhiễm trùng. Cơ chế hoạt động của IL-6 như là một cytokine chống viêm trung gian thông qua tác dụng ức chế trên TNF-alpha và IL-1, kích hoạt của IL-1RA và IL-10.

Theo nguyên lý miễn dịch kiểu Sandwich. Phương pháp điện hóa phát quang (ECLIA). Tổng thời gian của phản ứng 18 phút.

- Thời gian ủ đầu tiên: mẫu bệnh phẩm được ủ với kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng IL-6 đã được đánh dấu biotin.
- Thời gian ủ thứ hai: Sau khi thêm kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng IL-6 được đánh dấu phức hợp ruthenium và các vi hạt phủ streptavidin, kháng thể tạo thành phức hợp bắt cặp với kháng nguyên của mẫu.
- Hỗn hợp phản ứng được chuyển tới buồng đo, ở đó các vi hạt đôi 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. Một dòng điện một chiều cho vào điện cực sẽ tạo nên sự phát quang hóa học được đo bằng bộ khuếch đại quang tử.

Kết quả được tính toán dựa vào đường cong chuẩn thu được bằng cách chuẩn 2 điểm và đường cong gốc được cung cấp từ nhà sản xuất. Nồng độ chất cần định lượng tỷ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 kỹ thuật viên

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

Các máy phân tích miễn dịch như: elecys, các máy cobas e

2.2. Hóa chất

a) Tris (2,2'-bipyridyl) ruthenium(II)-complex (Ru(bpy)₂⁺)

+ M : Vi hạt phủ Streptavidin (nắp trong), 1 chai, 6.5 mL: Vi hạt phủ Streptavidin 0.72

mg/mL; chất bảo quản.

+ R1: Anti-IL-6~biotin (nắp màu xám), 1 chai, thể tích 9 mL:

Kháng thể đơn dòng kháng IL-6 đánh dấu biotin 0.9 µg/mL; đệm phosphate 95 mmol/L, pH 7.3; chất bảo quản.

+ R2: Anti-IL-6~Ru(bpy)₂⁺ (nắp đen), 1 chai, thể tích 9 mL: Kháng thể đơn dòng kháng IL-6 đánh dấu phức hợp ruthenium 1.5 µg/L; đệm phosphate 95 mmol/L, pH 7.3; chất bảo quản.

Đặt hộp thuốc thử Elecsys IL-6 theo hướng thẳng đứng nhằm đảm bảo tính hữu dụng của toàn bộ các vi hạt trong khi trộn tự động trước khi sử dụng.

+ Procell

+ Clean cell

+ Dung dịch chuẩn

+ Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3

Thuốc thử được bảo quản ở nhiệt độ 2-8⁰C ổn định đến thời hạn ghi trên hộp

Thuốc thử đã mở nắp ổn định 4 tuần trên khay đựng hóa chất của máy (luôn bật)

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm

- Găng tay

- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh về mục đích của xét nghiệm

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng

4. Phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Tiến hành phân tích trên mẫu máu, có thể dùng: Huyết thanh; Huyết tương: dùng chất chống đông natri-heparin, EDTA.

Tính ổn định của mẫu: huyết thanh, huyết tương có thể ổn định: 24 giờ/nhiệt độ 2-25⁰C; 3 tháng/ nhiệt độ -20⁰C; Nếu > 3 tháng (-70⁰C).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dụng cụ chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level: 1, 2 và 3. Khi QC đạt sẽ tiến hành phân tích mẫu.

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 người bệnh); chọn test và theo protocol của máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Phân tích trên mẫu huyết tương huyết thanh của 817 người khỏe mạnh, xác định được một khoảng giá trị tham chiếu đến 7 pg/mL (bách phân vị 95%).

- Theo nghiên cứu (American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992;20:864-874). Kết quả theo bảng dưới đây:

| | IL-6 (pg/mL) | | | | | |
|------------------------|--------------|------|-------|------|----|-----|
| | median | Mean | | | | |
| SIRS* | 62.1 | 150 | ≤ 1.5 | 2062 | 94 | 159 |
| Nhiễm trùng huyết | | | | | | |
| Nhiễm trùng huyết nặng | | | | | | |
| Sốc nhiễm trùng | | | | | | |

*systemic inflammatory response syndrome

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

+ Các yếu tố có thể gây nhiễu khi:

Bilirubin > 428 μmol/L (> 25 mg/dL); Huyết tán: khi Hb > 0.621 mmol/L (> 1.0 g/dL); Triglycerid > 1500 mg/dL; Yếu tố dạng thấp (Rh) > 1500 IU/mL; Biotin > 123 nmol/L (> 30 ng/mL).

+ Xử trí: Khi người bệnh đang sử dụng thuốc biotin với liều > 5 mg/24 giờ, cần ngừng thuốc tối thiểu ≥ 8 giờ tính đến thời điểm lấy máu.

90. ĐỊNH LƯỢNG IL-8 (INTERLEUKIN - 8)

I. NGUYÊN LÝ

IL-8 là một chemokine - một trong những chất trung gian quan trọng của phản ứng viêm được tiết ra bởi một số loại tế bào. Nó có vai trò hấp dẫn hóa học với tế bào và cũng là một yếu tố tạo mạch mạnh. IL-8 thường được chỉ định xét nghiệm trong một số bệnh như: Bệnh vẩy nến, Xơ hóa phổi, Bệnh màng phổi, Viêm khớp dạng thấp...

Interleukin- 8 được định lượng dựa trên nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Immulite
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Interleukin- 8, chất chuẩn Interleukin- 8, chất kiểm tra chất lượng Interleukin- 8.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là EDTA . Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 2-8°C, lâu dài ở -20°C. Tránh ánh sáng mặt trời.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IL8. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Interleukin- 8. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Interleukin- 8 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- + Bình thường Interleukin- 8 <62 pg/mL
- + Tăng trong một số quá trình viêm như: Bệnh vẩy nến, Xơ hóa phổi, Bệnh màng phổi, Viêm khớp dạng thấp...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 200 mg/L.
 - + Cần thận trọng khi đánh giá kết quả với những mẫu máu vỡ hồng cầu hoặc tăng Lipid máu.
- 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).

91. ĐỊNH LƯỢNG IL-10 (INTERLEUKIN - 10)

I. NGUYÊN LÝ

IL-10 là một cytokine có tác dụng trong hóa miễn dịch và viêm. IL-10 thường được chỉ định xét nghiệm trong một số bệnh như: Nhiễm trùng huyết, Bệnh vẩy nến, Viêm khớp dạng thấp...

Interleukin-10 được định lượng dựa trên nguyên lý miễn dịch enzyme sử dụng công nghệ hóa phát quang.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Immulite
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Interleukin-10, chất chuẩn Interleukin-10, chất kiểm tra chất lượng Interleukin-10 .

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin, không sử dụng chất chống đông EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 6 giờ ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C. Tránh ánh sáng mặt trời.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IL-10. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Interleukin-

10. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Interleukin-10 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường Interleukin- 10 <9.1 pg/mL
- Tăng trong một số quá trình viêm như: Nhiễm trùng huyết, Bệnh vẩy nến, Viêm khớp dạng thấp...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 200 mg/L .
 - + Huyết thanh đục: Triglycerid < 2000 mg/dl.
 - + Tán huyết: Có thể ảnh hưởng đến kết quả tùy vào mức độ tán huyết của mẫu.
 - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ Interleukin-10 tới 103.3 pg/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).

92. ĐỊNH LƯỢNG IgE (Immuglobulin E) (Bằng phương pháp ELISA)

I. NGUYÊN LÝ

- Định lượng IgE dựa trên pha rắn của phương pháp ELISA; phương pháp sử dụng kháng thể đơn dòng kháng kháng thể IgE ở đáy giếng trong pha rắn và kháng thể kháng IgE từ dê trong dung dịch kết hợp chứa enzyme horseradish peroxidase.
- Mẫu bệnh phẩm (huyết thanh) được thêm vào các giếng đã được tráng bằng kháng thể kháng IgE và ủ với dung dịch đệm Zero trong vòng 30 phút ở nhiệt độ phòng. Nếu IgE hiện diện trong mẫu bệnh phẩm, sẽ kết hợp với các kháng thể có trong giếng. Giếng được rửa để loại bỏ mẫu dư và kháng thể kháng IgE được đánh dấu bằng peroxidase được thêm vào hình thành phức liên kết enzyme và kháng thể, kẹp giữa là phân tử IgE.
- Sau khi ủ ở nhiệt độ phòng 30 phút, các giếng được rửa để loại bỏ các thành phần dư thừa. Cơ chất TMB được thêm vào ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút để chuyển thành màu xanh da trời dưới tác dụng của peroxidase. Tiến hành đọc phản ứng ở bước sóng 450 nm.
- Nồng độ IgE được tính trực tiếp từ độ đậm của màu xanh trong giếng

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất

Bộ kit cung cấp

- Giếng 96 lỗ đã chứa kháng thể đơn dòng IgE
- Zero buffer
- Enzyme conjugate
- Chuẩn IgE tham chiếu mỗi ống 0.5ml chứa 0, 10, 50, 100, 400 và 800 IU/mL của WHO
- Dung dịch hiện màu TMB
- Dung dịch ngưng phản ứng 1N HCl

Điều kiện bảo quản: 2-8°C

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm:

- Được sử dụng như một test dự ứng: xét nghiệm kháng thể IgE và test bì là các xét nghiệm về cơ bản có thể dùng thay thế lẫn nhau.
- Được chỉ định đối với một loạt các bệnh ký sinh trùng.
- Để chẩn đoán bệnh đa u tủy xương loại IgE.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

5. Bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu vào ống nghiệm không chống đông.
- Ly tâm, tách huyết thanh

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Đặt các giếng với số lượng mẫu dự định vào khay chứa
- Cho vào các giếng thích hợp 20 μ l chất chuẩn, mẫu và chứng
- Thêm 100 μ l Zero buffer mỗi giếng
- Trộn đều trong vòng 30 giây
- Ủ ở nhiệt độ phòng (18-25⁰C) trong vòng 30 phút
- Loại bỏ hỗn hợp dịch ủ bằng cách lật úp vào dụng cụ chứa nước thải
- Rửa và loại bỏ lặp lại 5 lần với nước không ion
- Loại bỏ lượng nước dư còn lại trong giếng bằng cách gõ đĩa trên giấy thấm
- Thêm vào mỗi giếng 150 μ l dung dịch enzyme conjugate, hoà trộn nhẹ nhàng 10 giây
- Ủ ở nhiệt độ phòng 30 phút
- Rửa 5 lần với nước cất hoặc nước không ion
- Dùng giấy thấm để loại bỏ lượng nước còn thừa trong giếng
- Thêm vào mỗi giếng 100 μ l dung dịch TMB, trộn đều 10 giây
- Ủ ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trong vòng 20 phút
- Thêm 100 μ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng
- Trộn nhẹ nhàng 10 giây, đảm bảo màu xanh chuyển thành màu vàng hoàn toàn
- Đọc giếng ở bước sóng 450nm trong vòng 15 phút

IV. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

- Kết quả được tính bằng trung bình giá trị hấp thu A450 cho mỗi chuẩn tham chiếu, mẫu và chứng.
- Xây dựng đường cong chuẩn, vẽ đồ thị độ hấp thu của mẫu chuẩn trên trục Y và nồng độ của chất chuẩn trên trục X, với nồng độ đường chuẩn tính bằng IU/mL
- Dùng đường chuẩn để xác định nồng độ của IgE trong mẫu bằng cách chiếu vào đường chuẩn.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Lượng IgE tổng ở người khỏe mạnh không bị dị ứng <100 IU/mL. Nồng độ IgE tối thiểu phát hiện bằng phương pháp này ở khoảng 5.0 IU/ml
- Các giới hạn của quy trình:

- + Kết quả tin cậy khi nhân viên hiểu biết và thực hiện đúng theo quy trình và có thực hành tốt phòng thí nghiệm
- + Các bước rửa rất quan trọng, ảnh hưởng lớn đến kết quả nếu rửa không đủ và không đúng cách
- + Mẫu huyết thanh phải không bị tán huyết, không bị đục. Kết quả đạt được nên được sử dụng chỉ như là sự tiếp hợp với các phương pháp chẩn đoán khác và với những thông tin có sẵn cho bác sĩ.

93. ĐỊNH LƯỢNG IgE (Immunoglobuline E)

I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. IgE có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng IgE đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng IgE đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ IgE có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm IgE, chất chuẩn IgE, chất kiểm tra chất lượng IgE.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na-heparin, K3-EDTA, và sodium citrate. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 100 U/L

- IgE tăng trong: Các trạng thái dị ứng, hen phế quản, viêm mũi dị ứng, eczema, Nhiễm ký sinh trùng, nấm phổi.

- IgE máu giảm trong: Ung thư giai đoạn cuối không điều trị, Chứng mất điều hòa giãn mao mạch

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 37 mg/dL.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.1 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglycerid < 2200 mg/dl.

+ Biotin < 100 ng/ml. Trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ IgE tới 50000 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).

94. ĐỊNH LƯỢNG IgA (Immunoglobuline A)

I. NGUYÊN LÝ

IgA là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong chống lại vi khuẩn xâm nhập từ bề mặt niêm mạc. IgA được chỉ định xét nghiệm trong một số bệnh nhiễm trùng của hệ hô hấp, tiêu hóa, bệnh tự miễn, u tủy IgA...

IgA được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng IgA trong thuốc thử kết hợp với IgA trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ IgA có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm IgA, chất chuẩn IgA, chất kiểm tra chất lượng IgA.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông Li-/Na-heparin hoặc Na₂-/K₃-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8 tháng ở 15-25°C đến (-15)-(-25)°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IgA. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgA. Kết quả

kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgA đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 70 – 400 mg/dl.
- IgA máu tăng trong: Nhiễm trùng (ở trẻ sơ sinh, đường hô hấp, đường tiêu hoá), Xơ gan, U tuỷ IgA, Bệnh tự miễn, sốt thấp khớp.
- IgA máu giảm trong: Thiếu hoặc không có γ -globulin huyết, Leucemia lympho bào, Tiên sản giết.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - +Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL.
 - + Tán huyết: Hemoglobin <1.0 g/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglycerid < 3000 mg/dl.
 - + RF< 600 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).

95. ĐỊNH LƯỢNG IgG (Immunoglobuline G)

I. NGUYÊN LÝ

IgG là một globulin miễn dịch, đây là loại globulin miễn dịch phổ biến nhất trong cơ thể có vai trò trong kiểm soát nhiễm khuẩn của cơ thể. Xét nghiệm IgG thường được chỉ định trong một số bệnh như: Nhiễm trùng, Xơ gan, U tuỷ IgG

IgG được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng IgG trong thuốc thử kết hợp với IgG trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ IgG có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm IgG, chất chuẩn IgG, chất kiểm tra chất lượng IgG.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông Li-/Na-heparin hoặc Na/K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8 tuần ở 2°C- 8°C, 4 tháng ở 15–25°C, 8 tháng ở (-15) - (-25)°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 700 - 1600 mg/dl.

- IgG máu tăng trong: Nhiễm trùng, Xơ gan, U tủy IgG, sarcoidosis, Bệnh tự miễn, tăng miễn dịch, sốt thấp khớp.

- IgG máu giảm trong: Thiếu hoặc không có γ -globulin huyết, Leucemia lympho bào, Tiên sản giật.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.0 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglycerid < 3000 mg/dl.

+ RF < 1200 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).

96. ĐỊNH LƯỢNG IgM (Immunoglobuline M)

I. NGUYÊN LÝ

IgM là globulin miễn dịch có trọng lượng phân tử lớn nhất trong các globulin miễn dịch. Cấu trúc gồm 5 tiểu đơn vị xếp thành hình sao 5 cánh. IgM chiếm khoảng 7% các Ig trong huyết thanh, là Ig xuất hiện đầu tiên khi có kích thích của kháng nguyên. Vì vậy nó có vai trò quan trọng trong đáp ứng miễn dịch ở giai đoạn cấp tính. Xét nghiệm IgM thường được chỉ định trong một số bệnh như: Nhiễm trùng cấp, Bệnh macroglobulin Waldstrom, Sốt rét, Lymphosarcom, Tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng...

IgM được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng IgM trong thuốc thử kết hợp với IgM trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ IgM có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm IgM, chất chuẩn IgM, chất kiểm tra chất lượng IgM.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông Li-/Na-heparin hoặc Na₂-/K₃-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 4 tháng ở 2°C-8, 2 tháng ở 15–25°C, 6 tháng ở (-15)–(-25)°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 40 – 230 mg/dl.

- IgM máu tăng trong: Nhiễm trùng cấp, Bệnh macroglobulin Waldstrom, Sốt rét, Lymphosarcom, Tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng, Nhiễm virus Rubella ở trẻ sơ sinh.

- IgM máu giảm trong: Thiếu hoặc không có γ -globulin huyết, Leucemia lympho bào, Tiền sản giật.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.0 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglycerid < 3000 mg/dl.

- 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).

97. ĐỊNH LƯỢNG IGFBP-3 (Insulin-like grow factor binding protein)

IGF (Insulin-like Growth Factor) bao gồm IGF-I và IGF-II là một họ các peptide tham gia vào việc quy định sự tăng trưởng của tế bào, được thể hiện gián tiếp thông qua liên kết với các protein IGFBP (từ IGFBP-1 đến IGFBP-6), tạo thành phức hợp Glycoprotein. Trong đó IGFBP-3 có vai trò quan trọng nhất vì khoảng 95% IGF-I và IGF-II liên kết với IGFBP-3. Chức năng của IGFBP là kéo dài thời gian bán hủy của các IGF đến vài giờ trong vòng tuần hoàn của chúng.

I. NGUYÊN LÝ

Nồng độ IGFBP-3 được xác định dựa trên phép phân tích miễn dịch hóa phát quang đánh dấu enzym (Enzyme-labeled chemiluminescent immunoassay)

Quy trình phản ứng: Mẫu của người bệnh và thuốc thử sẽ được ủ cùng với hạt bead trong vòng 30 phút. Suốt thời gian này, IGFBP-3 trong mẫu sẽ liên kết với kháng thể đơn dòng kháng IGFBP-3 có trong thuốc thử và trên hạt bead để tạo nên phức hợp Sandwich: *Kháng thể-Kháng nguyên-Kháng thể*. Những thành phần không liên kết sẽ được rửa ly tâm để loại bỏ. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào tube phản ứng để tạo tín hiệu nhờ sự xúc tác của enzym ALP, tín hiệu thu được sẽ tỷ lệ thuận với lượng enzym ALP (có trong thuốc thử) gắn với kháng thể 2, hay tỷ lệ thuận với lượng IGFBP-3 có trong mẫu.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: Bác sỹ, cử nhân được đào tạo sử dụng máy Immulite 2000.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện: Hệ thống máy phân tích Immulite 2000 của hãng SIEMENS

2.2. Hóa chất

- Pha rắn: Hộp chứa hạt bead IGFBP-3

+ Chứa 200 hạt bead được phủ kháng thể đơn dòng kháng IGFBP-3 từ chuột

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Pha lỏng: Hộp chứa thuốc thử IGFBP-3

+ Chứa 11,5 mL enzymn alkaline phosphatase (từ ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng kháng IGFBP-3 từ chuột, trong dung dịch đệm.

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Các dung dịch hiệu chuẩn (Adjustor) IGFBP-3:

- + 2 lọ chứa IGFBP-3 (mức thấp và mức cao) trong dung dịch có nguồn gốc từ protein.(4mL/lọ). Không cần hòa loãng
- + Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C trong 30 ngày sau mở nắp, 6 tháng ở -20°C.
- Dung dịch hòa loãng mẫu: dùng để hòa loãng mẫu và control
- + Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C trong 30 ngày sau mở nắp, 6 tháng ở -20°C.
- Các thành phần không được cung cấp kèm theo Kit:
- + Cơ chất hóa phát quang (Chemiluminescent Substrate): là một ester phosphate của adamantyl dioxetane, bị thủy phân dưới xúc tác của enzym ALP tạo thành một dạng trung gian không ổn định. Chất trung gian này nhanh chóng bị phá vỡ liên kết để chuyển thành dạng ổn định, đồng thời phát xạ ánh sáng.
- + Dung dịch rửa các kim hút (Probe wash)
- + Dung dịch vệ sinh các kim hút (Probe Cleaning Kit)
- + Tube phản ứng, Tube mẫu
- + Dung dịch kiểm tra chất lượng (Control): 2 mức

Lưu ý:

- + Chỉ sử dụng để chẩn đoán trong phòng thí nghiệm
- + Thuốc thử được loại bỏ theo quy định
- + Chất bảo quản Natri azide (dưới 0,1 g/dL). Khi xử lý phải dùng một lượng nước lớn để rửa, tránh sự ăn mòn đường ống.
- + Cơ chất hoá phát quang: tránh nhiễm bẩn, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời.
- + Nước: sử dụng nước cất hoặc nước đã loại ion.

3. Người bệnh:

Người bệnh có dấu hiệu bất thường tuyến yên hoặc rối loạn trong sản xuất hormon tăng trưởng (GH – Growth hormone). Không nhất thiết yêu cầu người bệnh nhịn ăn trước khi lấy máu làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm: theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế, phải điền đầy đủ thông tin người bệnh...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Mẫu phân tích: Huyết thanh hoặc huyết tương có chất chống đông heparin.
- Xử lý mẫu:

+ Đảm bảo cục máu đông co lại hoàn toàn trước khi ly tâm mẫu tách huyết thanh, tránh nhiễu kết quả do sự có mặt của fibrin.

+ Khi sử dụng máu bị vỡ hồng cầu, việc đánh giá kết quả cần thận trọng.

+ Sử dụng máy siêu ly tâm để làm trong những mẫu có Lipid cao.

- Thể tích mẫu cần thiết: 5 µl huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bảo quản: 24 giờ ở 2 – 8°C hoặc ở nhiệt độ phòng 22°C, 12 tháng ở -25°C.

- Hệ số pha loãng mẫu tự động: 100

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Quy trình phân tích

- Để có kết quả tối ưu, cần tuân thủ các bước của quy trình bảo trì theo sách hướng dẫn IMMULITE 2000. Bao gồm: chuẩn bị, cài đặt, hòa loãng, hiệu chỉnh đường chuẩn (Adjustment), chạy kiểm tra chất lượng và phân tích.

- Chu kỳ hiệu chỉnh lại đường chuẩn (Adjustment) được khuyến cáo là 2 tuần, hoặc khi chạy kiểm tra chất lượng không đạt, hoặc khi thay Lot hóa chất mới.

- Chạy kiểm tra chất lượng ít nhất là 2 mức (thấp và cao)

2.2. Chu kỳ ủ: 1 x 30 phút

2.3. Thời gian có kết quả đầu tiên: 35 phút

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Hiện thị kết quả

- Đơn vị đo: µg/mL

Hệ số chuyển đổi đơn vị:

µg/mL × 1 → mg/L

µg/mL × 34,78 → nmol/L

- Giới hạn đo: 0,1 - 16 µg/mL

- Độ nhạy: 0,1 µg/mL

2. Giá trị tham khảo

- Trẻ sơ sinh:

+ Từ 1 đến 7 ngày: 0,7 µg/mL

+ Từ 8 đến 15 ngày: Trung vị 0,9 µg/mL (giới hạn 95%: 0,5 -1,4 µg/mL)

- Đối tượng khác:

| Tuổi | Trung vị IGFBP-3 (µg/mL) | Giới hạn 95% | Tuổi | Trung vị IGFBP-3 (µg/mL) | Giới hạn 95% |
|------|--------------------------|--------------|-------|--------------------------|--------------|
| 1 | 1,6 | 0,7 -3,6 | 17 | 5,3 | 3,2 – 8,7 |
| 2 | 1,8 | 0,8 – 3,9 | 18 | 4,9 | 3,1 – 7,9 |
| 3 | 2,0 | 0,9 – 4,3 | 19 | 4,6 | 2,9 – 7,3 |
| 4 | 2,2 | 1,0 – 4,7 | 20 | 4,6 | 2,9 -7,2 |
| 5 | 2,4 | 1,1 – 5,2 | 21-25 | 5,1 | 3,4 – 7,8 |
| 6 | 2,7 | 1,3 – 5,6 | 26-30 | 5,2 | 3,5 – 7,6 |
| 7 | 2,9 | 1,4 – 6,1 | 31-35 | 4,9 | 3,5 -7,0 |
| 8 | 3,2 | 1,6 – 6,5 | 36-40 | 4,8 | 3,4 -6,7 |
| 9 | 3,6 | 1,8 – 7,1 | 41-45 | 4,7 | 3,3 – 6,6 |
| 10 | 4,1 | 2,1 – 7,7 | 46-50 | 4,7 | 3,3 – 6,7 |
| 11 | 4,5 | 2,4 – 8,4 | 51-55 | 4,8 | 3,4 – 6,8 |
| 12 | 4,9 | 2,7 – 8,9 | 56-60 | 4,8 | 3,4 – 6,9 |
| 13 | 5,4 | 3,1 – 9,5 | 61-65 | 4,6 | 3,2 – 6,6 |
| 14 | 5,8 | 3,3 - 10 | 66-70 | 4,3 | 3,0 – 6,2 |
| 15 | 5,9 | 3,5 – 10 | 71-75 | 4,0 | 2,8 – 5,7 |
| 16 | 5,7 | 3,4 -9,5 | 76-80 | 3,5 | 2,5 – 5,1 |

Mỗi Phòng thí nghiệm nên thiết lập một giá trị tham khảo riêng.

3. Đánh giá

- Nồng độ IGFBP-3 chịu ảnh hưởng bởi GH, do đó rất hữu ích trong việc đánh giá sự tiết của GH, đồng thời đánh giá các rối loạn tăng trưởng: Nồng độ thấp của IGFBP-3 thường liên quan đến sự thiếu hụt GH. Ngược lại, sự tăng nồng độ IGFBP-3 là do sự sản xuất quá mức của GH.
- Ngoài GH, nồng độ IGFBP-3 còn bị ảnh hưởng bởi các yếu tố khác như:
 - + Độ tuổi: Nồng độ IGFBP-3 tăng dần theo độ tuổi, đạt đỉnh ở tuổi dậy thì (khoảng 15 tuổi), sau đó giảm dần ở tuổi trưởng thành.
 - + Nồng độ IGFBP-3 tăng trong suy thận mạn, giảm trong suy dinh dưỡng, suy giáp, đái tháo đường và suy gan.

V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Hạn chế của phương pháp

- Các kháng thể không đồng nhất trong huyết thanh người có thể phản ứng với các Ig trong thuốc thử gây nhiễu kết quả phân tích
- Những người bệnh thường xuyên tiếp xúc với động vật hoặc các sản phẩm từ huyết thanh động vật cũng có thể gây nhiễu kết quả phân tích
- Sử dụng kết quả phân tích với mục đích chẩn đoán, cần kết hợp với các triệu chứng lâm sàng và tiền sử bệnh của người bệnh.

2. Yếu tố gây nhiễu

- Hiệu ứng High-dose Hook: $>340 \mu\text{g/mL}$
- Các mẫu huyết thanh có nồng độ T-Bilirubin $> 200 \text{ mg/L}$ ($342 \mu\text{mol/L}$), hoặc nồng độ Hb $> 550 \text{ mg/dL}$, hoặc nồng độ TG $> 3000 \text{ mg/dL}$ ($33,9 \text{ mmol/L}$) có thể ảnh hưởng đến kết quả. *Do đó, không sử dụng các mẫu này để phân tích.*

98. ĐỊNH LƯỢNG INSULIN

I. NGUYÊN LÝ

Insulin là hormon do tế bào beta của tiểu đảo tụy Langerhans tiết ra, có chức năng điều hòa chuyển hóa carbonhydrat. Ngoài ra, Insulin còn tác dụng đến chuyển hóa mô mỡ, cơ và gan hình thành năng lượng dưới dạng ATP cung cấp cho các hoạt động sống của cơ thể. Việc định lượng insulin máu có ích trong chẩn đoán khối u tiết insulin (insulinoma); Khảo sát tình trạng kháng insulin ở người bệnh đái tháo đường type 2, hội chứng chuyển hoá,..

Định lượng insulin dựa trên nguyên lý miễn dịch theo kiểu “sandwich”, theo phương pháp điện hóa phát quang (ECLIA). Tổng thời gian của phản ứng là 18 phút

+ Lần ủ đầu tiên: Gồm mẫu bệnh phẩm (huyết thanh, huyết tương), một kháng thể đơn dòng đặc hiệu với insulin đã được gắn với biotin và một kháng thể đơn dòng đặc hiệu với insulin được gắn với phức hợp ruthenium để tạo thành phức hợp kiểu sandwich

+ Lần ủ thứ hai: sau khi cho thêm các vi hạt được bao phủ bởi streptavidin, phức hợp sẽ bám vào phase rắn qua phản ứng của biotin và streptavidin

+ Phức hợp phản ứng được đưa vào buồng đo. Tại đây các vi hạt (microparticles) được giữ lại bằng từ tính trên bề mặt điện cực. Những chất thừa được rửa đi bằng procell. Dùng một dòng điện một chiều (2 vôn) tác động vào nhằm kích thích phát quang và cường độ tín hiệu ánh sáng phát ra có thể đo được bằng bộ phận nhân quang.

+ Kết quả được tính toán dựa vào đường cong chuẩn thu được bằng cách chuẩn 2 điểm và đường cong gốc được cung cấp từ nhà sản xuất. Nồng độ insulin tỷ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 kỹ thuật viên.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: Elecsys 1010, Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 411, cobas e 601 và một số máy khác.

- Máy ly tâm

- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm.

- Pipet các loại

- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

- Thuốc thử 1 (M)- nắp trong, có thể tích 6.5 mL: chứa các vi hạt được bao phủ Streptavidin 0.72 mg/mL; chất bảo quản.
- Thuốc thử 2 (R1)- nắp màu ghi, có Anti-insulin-Ab~biotin, thể tích 10 mL:
- Kháng thể kháng insulin đơn dòng được gắn với Biotinyl: 1 mg/L; đệm MES 50 mmol/L, pH 6.0; chất bảo quản.
- Thuốc thử 3 (R2) nắp màu đen, có Anti-insulin-Ab~Ru(bpy), thể tích 10 mL: có chứa kháng thể kháng insulin đơn dòng đánh dấu bằng phức hợp ruthenium: 1.75 mg/L; dung dịch đệm MES 50 mmol/L, pH 6.0; chất bảo quản.
- Bảo quản thuốc thử: ở nhiệt độ 2- 8°C, có thể ổn định đến thời hạn ghi trên hộp. Thuốc thử sau khi mở nắp bảo quản được 12 tuần ở 2-8°C. Nếu để trên máy (không tắt máy) có thể được 4 tuần.
- Procell; Clean cell
- Dung dịch chuẩn
- Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

Ống nghiệm; găng tay; Bông , cùn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm.

Cần nhịn ăn 10 giờ tính đến thời điểm lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Phân tích trên mẫu máu: có thể dùng Huyết thanh; Huyết tương: chống đông: Li-heparin, K3-EDTA và sodium citrate.

Tính ổn định của mẫu: 24 giờ/ nhiệt độ 2-8°C; 6 tháng/ nhiệt độ -20°C. Mẫu chỉ đông lạnh một lần, mẫu bị vẩn, tủa cần ly tâm trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dụng cụ chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level. Khi QC đạt mới tiến hành phân tích mẫu.

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2 xét nghiệm.

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm.

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và máy sẽ tự động phân tích.

III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo

17,8 -173 pmol/L (2,6 – 24,9 μ U/mL)

Hệ số chuyển đổi: pmol/L x 0,144 = μ U/mL

μ U/mL x 6.945 =pmol/L

Insulin tăng: Bệnh ĐTĐ type 2, Hội chứng Cushing, Bệnh to viển cực, khối u insulin (Insulinoma)

Insulin giảm: Tăng glucose máu, Suy tuyến yên, ĐTĐ type 1.

IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

+ Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi: Bilirubin > 1539 μ mol/l (>90 mg/dL); Triglycerid > 1800 mg/dL; Biotin> 246 nmol/L (> 60 ng/mL).

+ Xử trí:

Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu, mẫu vỡ hồng cầu cần loại, lấy mẫu khác thay thế.

Ngừng các thuốc gây tăng nồng độ insulin máu: adrenalin, canxi gluconat, fructose, glucose, insulin, hormon tuyến giáp,...

Ngừng các thuốc làm giảm nồng độ insulin máu: (asparaginase, thuốc chẹn beta giao cảm, calcitonin, cimetidin).

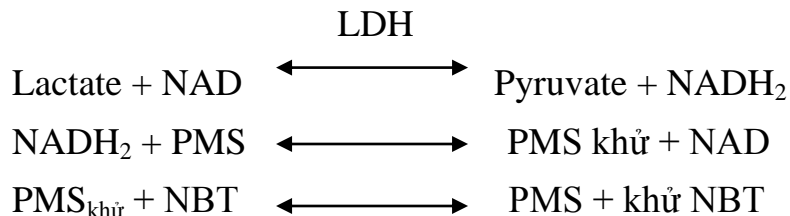
99. ĐIỆN DI LACTAT DEHYDROGENASE (LDH)

I. NGUYÊN LÝ

Lactat dehydrogenase (LDH) gồm 5 isoenzym. Điện di LDH nhằm phân tách các thành phần isoenzym của LDH. Điện di isoenzym LDH được thiết kế để xác định và định lượng 5 iso enzymes LDH trong huyết thanh người. LDH bao gồm năm đơn vị Isoenzym từ LDH₁ đến LDH₅. Mỗi isoenzym LDH được tạo thành từ bốn tiểu đơn vị (chuỗi polypeptide), có hai loại tiểu đơn vị: M ("cơ bắp") và H ("tim"). Điện di isoenzym LDH cho ra các thành phần, tên gọi và nguồn gốc các LDH như sau:

| TÊN GỌI | THÀNH PHẦN | NGUỒN TỪ MÔ |
|---------|-------------------------------|---------------|
| LD1 | H ₄ | Tim |
| LD2 | H ₃ M | Tim |
| LD3 | H ₂ M ₂ | Từ nhiều mô |
| LD4 | HM ₃ | Từ nhiều mô |
| LD5 | M ₄ | Cơ xương, gan |

Tất cả isoenzymes LDH xúc tác phản ứng thuận nghịch theo phản ứng sau:



NAD: Nicotinamide Adenine Dinucleotic

PMS: Phenazine Methosulfate

NBT: Nitro Blue Tetrazolium

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, Cử nhân, hoặc kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh được tập huấn sử dụng máy

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện: Máy Hydrasys của hãng Sebia Pháp

2.2. *Hóa chất*: Được cung cấp bởi hãng đặt máy, gồm:

| | | | | | | |
|--------------------------------------|-----|-------|----|-----|----------|---------|
| 7 | mẫu | trong | bộ | kit | HYDRAGEL | ISO-LDH |
| 15 | mẫu | trong | bộ | kit | HYDRAGEL | ISO-LDH |
| 30 mẫu trong bộ kit HYDRAGEL ISO-LDH | | | | | | |

Thành phần trong mỗi bộ kit:

Agarose gel: bảo quản ở nhiệt độ phòng (15-30⁰C) hoặc lạnh (2-8⁰C). Chúng được ổn định đến ngày hết hạn ghi trên gói. Tránh lưu trữ gần cửa sổ hoặc nguồn nhiệt, không làm đông lạnh.

Dải đệm: gồm alkaline buffer pH= 8,3. Lưu trữ ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh (Mũi tên trên mặt trước của hộp hướng lên trên), chúng ổn định cho đến ngày hết hạn ghi trên gói kit, không làm đông lạnh.

Dung môi hòa tan cơ chất: gồm lithium lactate, bảo quản ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh, ổn định đến ngày hết hạn ghi trên gói kit.

Cơ chất ISO-LDH: gồm NAD, NBT, PMS.

Pha cơ chất 10 phút trước khi sử dụng bằng cách thêm 2,25 mL dung môi hòa tan cơ chất vào lọ, đậy nắp, để ở nhiệt độ phòng (15-30⁰C) trong 05 phút, sau đó trộn nhẹ nhàng.

Dung dịch kìm hãm ISO CK / LD: gồm a.acetic 5%, a.citric 0,5%.

sử dụng để làm ngừng phản ứng enzym với cơ chất sau khi ủ gel theo thời gian quy định. Bảo quản ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh và ổn định đến ngày hết hạn ghi trên lọ.

Applicators: dùng để mao dẫn huyết thanh

Giấy lọc mỏng: để thấm độ ẩm thừa khỏi bề mặt gel trước khi sử dụng mẫu. Lưu trữ giấy lọc mỏng ở nơi khô ráo, nhiệt độ phòng.

Giấy lọc dày: để thấm nhiều dung dịch chặn ra khỏi bề mặt gel trước khi sấy khô. Bảo quản ở nơi khô ráo, nhiệt độ phòng.

3. Người bệnh: Gồm những người bệnh khám và điều trị tại bệnh viện.

Những người bệnh nghi ngờ tổn thương gan, thận, tim

4. Phiếu xét nghiệm: Theo mẫu quy định của bệnh viện và Bộ Y tế.

Cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán, ghi rõ chỉ định xét nghiệm, thời gian lấy mẫu, loại mẫu...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: Chỉ dùng huyết thanh

- Lấy 2ml máu cho vào ống nghiệm không có chất chống đông. Quay ly tâm, tách lấy phần huyết thanh. Bảo quản 1 tuần ở nhiệt độ phòng, không bảo quản mẫu ở 2-8 oC. Không dùng mẫu đông lạnh hoặc mẫu vỡ hồng cầu
- Khi hoạt độ LDH > 750 IU/L, pha loãng mẫu huyết thanh bằng nước muối sinh lý để đạt được hoạt độ LDH khoảng 750 IU/L. Trộn và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Bật máy Hydrasys
- Lấy 10 μ L huyết thanh nhỏ vào mỗi giếng trên applicator, tránh lan sang giếng bên cạnh
- Đặt Applicator vào bình hút âm 5 phút
- Mở nắp buồng điện di và gắn điện cực vào
- Chọn chương trình điện di trên màn hình của máy
- Mở gói Agarose gel, dùng giấy thấm mỏng để thấm hết dung dịch bảo quản trên gel.
- Nhỏ 120 μ L nước cất (đối với HYDRAGEL 7 ISO CK/LD), hoặc 200 μ L cho HYDRAGEL ISO CK/LD 15/30) lên 1/3 dưới của khung đặt Agarose gel
- Đặt tấm gel lên khung, tránh bong bóng giữa tấm gel và bề mặt khung
- Thấm hết dung dịch thừa xung quanh gel
- Chụp khung bảo vệ, đặt applicator lên trên khung đúng vị trí
- Đậy nắp buồng điện di và ấn START
- Sau khi điện di xong, lấy applicator ra khỏi buồng điện đi
- Đặt template 4 (khuôn) vào buồng ủ bên cạnh buồng điện di, dùng pipet nhỏ 2ml cơ chất ISO LDH (đối với HYDRAGEL 7 ISO CK / LD, hoặc 4 ml đối với ISO-LDH cho HYDRAGEL ISO CK / LD 15/30) vào lỗ của template 4, tránh bọt khí, sau đó bấm nút start trên máy để ủ. Sau khi ủ xong loại bỏ cơ chất ISO LDH thừa bằng pipet.
- Sau đó nhỏ 2ml dung dịch nhuộm ISO LDH (đối với HYDRAGEL 7 ISO CK / LD, hoặc 4 ml đối với ISO-LDH cho HYDRAGEL ISO CK / LD 15/30), tránh bọt khí, sau đó bấm nút start trên máy để nhuộm. Sau khi nhuộm xong loại bỏ dung dịch nhuộm ISO LDH thừa bằng giấy thấm.
- Bước tiếp theo là sấy khô và scan gel lên phần mềm và phân tích kết quả (ở bước sóng 570nm).
- Trong mỗi lần chạy mẫu nên kèm theo 1 mẫu Control.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- LDH là một enzym trong tế bào xúc tác phản ứng pyruvat \leftrightarrow lactat. LDH có mặt trong hầu hết các mô của cơ thể và được giải phóng khi có tình trạng hủy tế bào.
- LDH tăng trong : tổn thương cơ, tổn thương gan, bệnh lý huyết học (tan máu, thiếu máu), tổn thương thận (suy thận, ghép thận)
- Giá trị tham khảo : LDH toàn phần 240 – 480 U/L
 - LD1: 16,1 - 31,5%
 - LD2: 29,2 – 41,6%
 - LD3: 17 – 26,3%
 - LD4: 5,9 – 12,3%
 - LD5: 3,2 – 17,3%

Mỗi Labo nên thiết lập giá trị bình thường của riêng mình.

Khi phân tích kết quả nên kết hợp với tiền sử của người bệnh.

- LD1 và LD2 tăng trong nhồi máu cơ tim, phẫu thuật tim, tan huyết, bệnh
- LD3 tăng và đồng thời cũng tăng LD2 và LD4 trong nhồi máu phổi, lymphomas...
- LD5 tăng trong các bệnh lý về cơ xương, bệnh gan và suy tim sung huyết.

V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Hoạt độ LDH trong hồng cầu cao gấp 100 lần so với hoạt độ enzym trong huyết thanh, vì vậy những trường hợp mẫu vỡ hồng cầu có thể làm kết quả không chính xác \rightarrow không thực hiện.
- Liên hệ với kỹ sư để được chỉ dẫn khi kỹ thuật bị lỗi, hay chuẩn bị và bảo quản hóa chất một cách cẩn thận.

100. ĐỊNH LƯỢNG IMA (Ischemia Modified Albumin)

IMA là albumin bị biến đổi do thiếu máu cục bộ, được tạo ra khi albumin huyết thanh trong hệ tuần hoàn tiếp xúc với mô cơ tim bị thiếu máu cục bộ. IMA là một dấu ấn nhạy cho thiếu máu cục bộ cơ tim được các nhà nghiên cứu quan tâm. Các dấu ấn tim hiện có như Troponin và CK-MB thì nhạy với hoại tử cơ tim. Đó là dấu ấn của các tế bào cơ tim bị hoại tử trong nhồi máu cơ tim cấp. Tuy nhiên, phần lớn người bệnh với hội chứng mạch vành cấp có thiếu máu cục bộ cơ tim nhưng không bị nhồi máu.

I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng IMA trong huyết thanh và huyết tương người.

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên - kháng thể, theo phương pháp sandwich: các giếng được phủ kháng thể đặc hiệu cho IMA. Standard, mẫu và Biotin-kháng thể (đã chuẩn bị) được thêm vào, IMA trong mẫu kết hợp với kháng thể phủ trên giếng và Biotin-kháng thể mới được thêm vào. Sau khi rửa đi các Biotin-kháng thể không kết hợp, HRP- Avidin liên hợp (đã chuẩn bị) được thêm vào. Tiếp sau khi các giếng được rửa lần hai, cơ chất TMB được thêm vào giếng. Tiếp theo, dung dịch ngừng phản ứng thêm vào sẽ chuyển từ màu *xanh sang vàng*, đậm độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ IMA trong mẫu thử, được đo ở bước sóng 450 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- *Thuốc thử được cung cấp của hãng Cusabio (CSB-E09594giò)*
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Biotin-kháng thể
- + Chuẩn (dạng đông khô)
- + Avidin-HRP
- + Dung dịch hòa loãng
- + Dung dịch rửa
- + Dung dịch hòa loãng Biotin-kháng thể
- + Cơ chất TMB

+ Dung dịch hòa loãng Avidin-HRP

+ Dung dịch ngừng phản ứng.

Trong đó: HRP-Avidin là Avidin liên kết với HRP (Horseradish Peroxidase)

TMB: 3,3',5,5' tetramethyl-benzidine

- *Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp*

+ Pipet chính xác

+ Các tube

+ Đầu côn pipet dùng một lần

+ Nước cất

+ Control 2 mức thấp và cao

3. Người bệnh

Không cần nhịn đói.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng citrate, EDTA, heparin.
- Huyết thanh: sau khi lấy mẫu thì để 30 phút, co cục máu, sau đó ly tâm 3000 vòng/phút, trong 10 phút. Tách ngay ra tube và bảo quản ở - 20° C. Ly tâm lại sau khi làm rã đông mỗi khi chạy mẫu. Chỉ rã đông một lần.
- Huyết tương: tương tự như trên nhưng phải ly tâm ngay sau khi lấy mẫu, không để quá 30 phút.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

2.1.1. Dung dịch rửa

Hòa 20 ml dung dịch rửa với nước cất để được dung dịch 500 ml.

2.1.2. Chuẩn (S0 - S7)

- Ly tâm lọ thuốc thử chuẩn (dạng đông khô) 6000 vòng/phút trong 30 giây.

- Thêm 1ml dung dịch hòa loãng vào lọ chuẩn (dạng đông khô) để được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 200 IU/mL (S7), để ít nhất 15 phút, lắc đều.
- Hòa tiếp nhiều lần để được các dung dịch chuẩn trực dụng (S6 - S1) với các nồng độ lần lượt là 100 IU/mL; 50 IU/mL; 25 IU/mL; 12,5 IU/mL; 6,25 IU/mL; 3,13 IU/mL. S0 có nồng độ 0 pg/mL.
- Sử dụng trong 4 giờ và vớt ngay sau khi dùng.

2.1.3. Biotin-kháng thể

Pha theo tỉ lệ Biotin-kháng thể : Dung dịch hòa loãng Biotin-kháng thể là 1:100

2.1.4. Avidin-HRP

Pha theo tỉ lệ HRP-avidin : Dung dịch hòa loãng Avidin-HRP là 1:100

2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng 270 phút
- Vệ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

- + Hút 100 μ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- + Ủ 120 phút ở 37° C
- + Loại bỏ chất lỏng, không rửa
- + Hút 100 μ l dung dịch Biotin-kháng thể trực dụng vào mỗi giếng
- + Ủ 60 phút ở 37° C
- + Rửa các giếng 3 lần với 200 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100 μ l dung dịch Avidin-HRP trực dụng vào mỗi giếng
- + Ủ 60 phút ở 37° C.
- + Rửa các giếng 3 lần với 200 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 90 μ l cơ chất TMB vào mỗi giếng
- + Ủ ở 37° C trong vòng 10 - 30 phút
- + Hút 50 μ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng
- + Tiến hành đo trong vòng 30 phút

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham khảo:

Người lớn: 4,0 - 33,85 IU/mL

- Ý nghĩa lâm sàng: IMA tăng trong

+ Hội chứng mạch vành cấp.

+ Tăng trong vòng vài phút sau khi thiếu máu cục bộ cơ tim, đạt đỉnh sau 6 giờ và tăng kéo dài đến 12 giờ.

+ Người bệnh xơ gan, vài loại nhiễm trùng và ung thư đang tiến triển

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Mẫu có kết quả vượt quá 200 IU/mL thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch hòa loãng.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

101. ĐỊNH LƯỢNG Kappa

I. NGUYÊN LÝ

Đa kháng thể là hỗn hợp các kháng thể chuyên biệt thu được từ việc tạo miễn dịch cho vật nuôi (dê) với các protein của người. Hiệu giá, tính ái lực và tính tinh khiết của các kháng thể này phù hợp trong phương pháp đo độ đục. Trong phương pháp này, các protein trong huyết thanh mẫu bệnh phẩm (kappa) phản ứng với kháng thể đặc hiệu (kháng protein) tạo tủa làm đục dung dịch có thể đo mức độ đục bằng máy đo quang để tính ra nồng độ kappa.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

02 người là bác sĩ và kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh, Miễn dịch.

2. Phương tiện, hóa chất

- Bộ kit cung cấp

+ **Dung dịch 1:** chất hoạt hóa kháng thể 2 x 10 ml

+ **Dung dịch 2:** kháng huyết thanh 2 x 1 ml

+ **Dung dịch 3:** mẫu và chất chuẩn 2 x 10 ml

- Điều kiện bảo quản : 2-8°C cho đến khi hết hạn trên nhãn.

- Cảnh báo: tất cả các hóa chất đều chứa sodium azide <0.1%. Lưu ý cẩn thận, không được nuốt, tránh tiếp xúc với da và bề mặt hở

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị hóa chất và mẫu bệnh phẩm

- Mẫu huyết thanh hoặc huyết tương

- Mẫu ổn định trong vòng 4 ngày (2-8°C), 4 tuần ở -20°C

- Để hóa chất và mẫu bệnh phẩm ở nhiệt độ phòng trước khi sử dụng

- Dung dịch 3: pha loãng 20 lần với mẫu và với chất chuẩn

- Vẽ đường chuẩn cho mẫu lần xét nghiệm

2. Chuẩn bị đường chuẩn

- Để vẽ đường chuẩn, pha loãng chất chuẩn Lambda với dung dịch 3 để đạt được 5 mức nồng độ bao gồm giữa cho đến quá giới hạn đường tuyến tính.

- Đường tuyến tính : 200-2000 mg/dl.

3. Pha mẫu

Phân biệt các ống đo từ 1 đến 5 cho 5 ống chuẩn

Pha mẫu đo như sau:

| | Mẫu | Chuẩn |
|---|--------|--------|
| Dung dịch 1 | 500 ul | 500 ul |
| Mẫu (đã pha loãng 20 lần) | 10 ul | -- |
| Chất chuẩn (đã pha loãng 20 lần) | -- | 10 ul |
| Hòa trộn và đo độ hấp thu A1 | | |
| Dung dịch 2 | 50 ul | 50 ul |
| Hòa trộn và đợi 10 phút, đo độ hấp thu A2 | | |

IV. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

- Vẽ hệ thống Cartesian trên giấy đồ thị: Nồng độ theo chiều ngang (trục X) với đơn vị là mg/dl và độ hấp thu theo chiều dọc (trục Y).
- Đánh dấu Hiệu các độ hấp thu (A2- A1) của 5 mức chuẩn trong so sánh tương quan nồng độ.
- Vẽ đường đi qua 5 điểm.
- Đánh dấu giá trị hấp thu (A2- A1) của mẫu để suy ra nồng độ.
- Chỉ số tham khảo: nồng độ chuỗi Kappa 660-1300 mg/dl.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng MSDS để tham khảo các hóa chất nguy hiểm
- Giá trị đo được là giá trị tổng của toàn bộ chuỗi protein; chia 3 để đạt được giá trị nồng độ của chuỗi nhẹ.

102. ĐỊNH LƯỢNG CHUỖI KAPPA TỰ DO

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng chuỗi nhẹ Kappa tự do có thể hỗ trợ lâm sàng chẩn đoán và theo dõi bệnh đa u tủy xương, u lympho, Bệnh đại phân tử Waldenström, thoái hóa dạng tinh bột amyloid, bệnh lắng đọng chuỗi nhẹ và các bệnh mô liên kết như lupus ban đỏ hệ thống.

Nguyên lý: Dựa trên nguyên lý miễn dịch. Sử dụng phương pháp miễn dịch đo độ đục có tăng cường các vi hạt latex. Chuỗi nhẹ Lambda tự do có trong mẫu huyết thanh hoặc nước tiểu sẽ kết hợp với các vi hạt latex đã được bao phủ trên bề mặt bởi lớp kháng thể kháng kappa, tạo thành phức hợp ngưng kết miễn dịch. Do lượng các kháng thể là dư thừa nên phức hợp miễn dịch được hình thành là tỷ lệ thuận với nồng độ kháng nguyên (chất cần phân tích). Tiến hành xác định độ đục của phức hợp này bằng phương pháp đo quang bước sóng 600 nm. Dựa trên đường cong chuẩn để tính được nồng độ chuỗi nhẹ Kappa tự do cần phân tích trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

2. **Phương tiện, hóa chất**

2.1. Phương tiện

- Các máy phân tích hóa sinh như AU 400, 640, 2700, 5800 và một số máy khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, ống sample cup
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

+Thuốc thử 1 (R1): Có các kháng thể đặc hiệu bao phủ lên các vi hạt latex. Chất bảo quản: 0.05% ProClin™*, 0.1% E-amino-n-caproic acid (EACA) và 0.01% benzamidine

+ Thuốc thử 2 (R2): Dung dịch chuẩn có nguồn gốc từ huyết thanh người có chứa kháng nguyên đa giá của chuỗi nhẹ Kappa tự do. Được đóng lọ dưới dạng dung dịch có tính ổn định cao có chứa 0.099% Natri azide, 0.1% EACA và 0.01% benzamidine có tác dụng như chất bảo quản.

+Thuốc thử bổ sung: có chứa 0.099% sodium azide có tác dụng như chất bảo

quản.

Các mẫu QC được lấy từ huyết thanh của người tự nguyện khỏe mạnh đã sàng lọc các yếu tố nguy cơ gây nhiễm HIV, viêm gan B, C,...

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. Không được để trong ngăn đá của tủ lạnh

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay
- Bông, cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu.

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh về mục đích của xét nghiệm.

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Thực hiện trên mẫu máu: Dùng huyết thanh (không dùng chất chống đông)
- Thực hiện trên mẫu nước tiểu tươi

Tính ổn định của mẫu: Mẫu ổn định 21 ngày/ nhiệt độ 2-8°C; nếu bảo quản lâu hơn / nhiệt độ (-20°C) hoặc thấp hơn nữa. Mẫu huyết thanh hoặc nước tiểu chỉ được chỉ được đông một lần

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

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và vận hành theo protocol máy sẽ tự động phân tích

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số tham khảo

+ Huyết thanh người bình thường: Khi phân tích mẫu huyết thanh của 282 người tự nguyện, khỏe mạnh có độ tuổi từ 20 - 90 tuổi có kết quả theo bảng sau:

| | Trị số trung bình (mg/L) | SD | Khoảng 95 % bách phân vị (mg/L) |
|------------------------|-----------------------------|------|---------------------------------------|
| Kappa tự do | 8.36 | 7.3 | 3.3 – 19.4 |
| Lambda tự do | 13.43 | 12.4 | 5.71 – 26.3 |
| Tỷ số κ/λ | 0.63 | 0.6 | 0.26 – 1.65 |

+ Nước tiểu người bình thường: Khi phân tích 66 mẫu nước tiểu người bình thường, tự nguyện khỏe mạnh có kết quả theo bảng sau:

| | Trị số trung bình | SD | 95 % bách phân vị | Tỷ số κ/λ và khoảng 95 % Bách phân vị |
|--------------|----------------------|------|----------------------|--|
| Kappa tự do | 5.40 (mg/L) | 4.95 | 0.39 – 15.1 (mg/L) | 1.852 |
| Lambda tự do | 3.17 (mg/L) | 3.30 | 0.81 – 10.1 (mg/L) | 0.461 - 4.00 |

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả khi:

Mẫu máu bị huyết tán, nồng độ bilirubin > 200mg/L.

Mẫu nước tiểu để lâu bị nhiễm khuẩn

- Xử trí

Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu, mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại, lấy mẫu máu khác thay thế.

103. ĐỊNH LƯỢNG KHÍ MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Khí máu động mạch là một xét nghiệm rất giá trị trong chẩn đoán, tiên lượng và theo dõi trong quá trình điều trị tại các khoa cấp cứu, hồi sức tích cực..., có thể chẩn đoán suy hô hấp, phản ánh tình trạng oxy hoá máu và thăng bằng kiềm toan trong máu. Kết quả khí máu có thể sẽ gợi ý nguyên nhân hoặc hướng điều trị.

Theo nguyên lý điện cực chọn lọc

Gồm 1 điện cực chuẩn (reference electrode) và các điện cực: Điện cực pO₂, Điện cực pCO₂, Điện cực pH

- Điện cực đo pH: điện cực quy chiếu là điện cực calomel. Khi mẫu bệnh phẩm đi qua điện cực thì ở bề mặt giữa điện cực và bệnh phẩm phát sinh điện thế mà trị số phụ thuộc vào nồng độ ion H⁺.
- Điện cực đo áp suất riêng phần pCO₂: CO₂ thấm qua một màng silicol đặc hiệu để tiếp xúc với dung dịch bicarbonat và làm thay đổi pH của dung dịch này. Do thay đổi pH như một pH kế. Kết quả biểu thị ra pCO₂.
- Điện cực chọn lọc O₂: điện cực platin được âm cực hóa so với điện cực quy chiếu. O₂ thấm qua màng sẽ khử cực một phần bề mặt của catot và làm giảm điện trở của mạch điện. Cường độ dòng điện đo được tỷ lệ thuận với nồng độ O₂ của dung dịch. Từ ba thông số được đo trực tiếp trên, máy đo khí máu tính toán ra các thông số khác như: HCO₃⁻, HCO₃⁻ chuẩn (SB), kiềm dư (BE), kiềm đệm (BB),... là những thông số cần thiết để đánh giá trạng thái toan-kiềm của người bệnh.
- Phân tích Hb có thể dựa theo phép đo quang

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

Máy phân tích khí máu: cobas b 221(Roche), máy Radiometer (Denmark); model gastat 1820 (Nhật bản) và một số máy khác

Dụng cụ lấy máu: được tráng Li-heparin, cần lấy máu vào dụng cụ chuyên dụng (tạo thành chu trình khép kín tránh bội nhiễm không khí từ bên ngoài vào) mẫu sau khi lấy được đóng nắp kín và chuyển ngay xuống PXN để phân tích. Ví dụ microsample (Roche diagnostic)

Kim lấy máu: dùng loại kim thích hợp

2.2. Hóa chất

Ngoài các thông số khí máu, Nếu còn có thể phân tích thêm các thông số khác như: glucose, ure, lactat, natri, kali, thì cần thêm các bình hóa chất khác

S1: Rinse solution

S2: Fluid pack

S3: Fluid pack (khi đo các thông số glucose, lactat

Dung dịch deprotein

(Hóa chất theo công ty Roche)

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm; găng tay; Bông, cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của XN.

Người bệnh cần rửa tay sạch sẽ đặc biệt vị trí lấy máu.

Người nhà người bệnh cần hỗ trợ nếu cần thiết trong khi lấy máu chú ý sau khi lấy mẫu cần ấn chặt vị trí lấy máu từ 5-10 phút tránh khối máu tụ và chảy máu

3. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: mẫu máu động mạch

Mẫu máu được lấy vào dụng cụ chuyên biệt dành cho lấy khí máu, có tráng heparin (microsample).

Vị trí lấy máu động mạch: động mạch quay, động mạch cánh tay, động mạch bẹn, ...có thể lấy máu ở các buồng tim hoặc động mạch phổi khi đang phẫu thuật tim.

Mẫu máu sau khi lấy cần được đóng nắp kín (cần bảo quản lạnh) và chuyển khẩn trương xuống phòng xét nghiệm để phân tích ngay

2. Tiến hành kỹ thuật

Máy cần được chuẩn tại 2 điểm

Chạy QC ở 3 mức: 1, 2 và 3. Chỉ tiến hành phân tích mẫu khi QCV đạt yêu cầu

Chọn mục phân tích mẫu máu, Thao tác theo protocol của máy.

Tháo nắp dụng cụ lấy mẫu, đưa mẫu vào vị trí, ấn nút hút mẫu, khi nạp đủ máy sẽ báo và tháo dụng cụ đựng mẫu ra, máy sẽ tự phân tích mẫu

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo

pH máu: 7.35 – 7.45

pCO₂: 35-45 mmHg

PO₂: 80 -100 mmHg

HCO₃ std: 22 -28 mEq/L

SaO₂: 94 – 100%

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Sai sót | Xử trí |
|---|--|
| Lấy không đúng dụng cụ, mẫu máu bị đông | Cần dùng đúng dụng cụ, mẫu vừa đủ 2 cành |
| Lấy nhầm vào máu tĩnh mạch | Làm pH giảm và độ bão hòa oxy giảm |
| Mẫu máu bị nhiễm không khí | Khi lấy mẫu xong phải đóng nắp luôn |

104. ĐỊNH LƯỢNG LACTAT

I. NGUYÊN LÝ

Lactat bị oxi hóa bởi lactat oxidase (LOD) tạo thành pyruvat và hydrogen peroxid. Một sản phẩm màu được tạo từ hydrogen peroxide vừa tạo thành, 4- aminoantipyrine và chất hydrogen donor (TOOS). Dưới tác dụng của peroxydase (POD). Sản phẩm màu được đo bằng máy đo quang. Độ đậm màu tỉ lệ với nồng độ Lactat có trong bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên của phòng xét nghiệm có nhiệm vụ nhận và kiểm tra chất lượng của mẫu bệnh phẩm bằng cách đối chiếu với các tiêu chuẩn loại bỏ và thực hiện phân tích theo phương pháp đã được xác định.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700
- Máy ly tâm
- Hóa chất làm xét nghiệm Lactat (hãng Olympus)
- Huyết thanh kiểm tra mức 1 (QC mức bình thường)
- Huyết thanh kiểm tra mức 2 (QC mức bệnh lý)
- Chuẩn
- Nước cất

3. Người bệnh

Nồng độ lactate tăng trong máu khi hoạt động mạnh vì vậy người bệnh cần được nghỉ ngơi trước khi lấy mẫu.

4. Phiếu xét nghiệm

Ghi đầy đủ thông tin cần thiết: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết tương hoặc dịch não tủy. Không sử dụng huyết thanh
- Huyết tương: sử dụng huyết tương chống đông bằng sodium fluoride oxalate-kali.

- Mẫu ổn định: ổn định trong 14 ngày khi bảo quản tại 2 đến 8°C và 8 giờ khi bảo quản tại 15 đến 25°C
- Phân tích mẫu ngay lập tức hoặc tách huyết tương và bảo quản lạnh ngay trong vòng 15 phút sau thu thập mẫu

2. Tiến hành kỹ thuật

- Ly tâm ống máu hoặc dịch não tủy trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.
- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy Beckman Coulter.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:
- Hàng ngày : Chạy 2 mức kiểm QC tra chất lượng hàng ngày vào buổi sáng và ít nhất sau mỗi 8 tiếng. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức QC nằm trong khoảng cho phép.
- 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 chuẩn máy XN.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

- Nồng độ lactate máu: Máu động mạch < 1.8 mmol/L

Máu tĩnh mạch 0.5- 2.2 mmol/L

- Nồng độ lactate dịch não tủy : 1.2- 2.1 mmol/L

2. Ý nghĩa lâm sàng

Tăng lactate máu được chia làm 2 loại:

- Typ A : Do oxy cung cấp cho mô không đủ, tạo lactat quá mức. Nguyên nhân: Giảm tưới máu mô do giảm huyết áp, tăng tính thấm thành mạch, suy tim trái; Giảm bảo hoà oxy mô do ngạt, thiếu oxy, ngộ độc CO, thiếu máu nặng.
- Typ B: không phải do thiếu oxy mà do suy giảm chuyển hoá hoặc giảm đào thải lactate.
 - + Mắc phải: nhiễm trùng huyết, suy thận, suy gan nặng, đái tháo đường nhiễm toan ceton, thuốc hoặc chất độc, vận cơ mạnh
 - + Di truyền: bệnh ty thể, ứ glycogen typ 1,2, 3, 5, 8; thiếu hụt fructose 1,6 diphosphatase và pyruvat carboxylase

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

105. ĐỊNH LƯỢNG Lambda (Phương pháp đo độ đục)

I. NGUYÊN LÝ

Đa kháng thể là hỗn hợp các kháng thể chuyên biệt thu được từ việc tạo miễn dịch cho vật nuôi (dê) với các protein của người. Hiệu giá, tính ái lực và tính tinh khiết của các kháng thể này phù hợp trong phương pháp đo độ đục. Trong phương pháp này, các protein trong huyết thanh mẫu bệnh phẩm (Lambda) phản ứng với chất kháng thể đặc hiệu (kháng protein) tạo tủa làm đục dung dịch có thể đo mức độ đục bằng máy đo quang để tính ra nồng độ Lambda.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

2. Phương tiện, hóa chất

- Bộ kit cung cấp

+ **Dung dịch 1:** chất hoạt hóa kháng thể 2 x 10 ml

+ **Dung dịch 2:** kháng huyết thanh 2 x 1 ml

+ **Dung dịch 3:** mẫu và chất chuẩn 2 x 10 ml

- Điều kiện bảo quản : 2-8°C cho đến khi hết hạn trên nhãn.

- Cảnh báo: tất cả các hóa chất đều chứa sodium azide <0.1%. Lưu ý cẩn thận, không được nuốt, tránh tiếp xúc với da và bề mặt hở.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích làm xét nghiệm

3. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị hóa chất và mẫu bệnh phẩm

- Mẫu huyết thanh hoặc huyết tương

- Mẫu ổn định trong vòng 4 ngày (2-8°C), 4 tuần ở -20°C

- Để hóa chất và mẫu bệnh phẩm ở nhiệt độ phòng trước khi sử dụng

- Dung dịch 3: pha loãng 20 lần với mẫu và với chất chuẩn

- Vẽ đường chuẩn cho mẫu lần xét nghiệm

2. Chuẩn bị đường chuẩn

- Để vẽ đường chuẩn, pha loãng chất chuẩn Lambda với dung dịch 3 để đạt được 5 mức nồng độ bao gồm giữa cho đến quá giới hạn đường tuyến tính

- Đường tuyến tính : 150-2000 mg/dl

3. Pha mẫu

Phân biệt các ống đo từ 1 đến 5 cho 5 ống chuẩn

Pha mẫu đo như sau:

| | Mẫu | Chuẩn |
|---|--------|--------|
| Dung dịch 1 | 500 ul | 500 ul |
| Mẫu (đã pha loãng 20 lần) | 25 ul | -- |
| Chất chuẩn (đã pha loãng 20 lần) | -- | 25 ul |
| Hòa trộn và đo độ hấp thu A1 | | |
| Dung dịch 2 | 50 ul | 50 ul |
| Hòa trộn và đợi 10 phút, đo độ hấp thu A2 | | |

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Vẽ hệ thống Cartesian trên giấy đồ thị: Nồng độ theo chiều ngang (trục X) với đơn vị là mg/dl và độ hấp thu theo chiều dọc (trục Y)
- Đánh dấu Hiệu các độ hấp thu (A2- A1) của 5 mức chuẩn trong so sánh tương quan nồng độ
- Vẽ đường đi qua 5 điểm
- Đánh dấu giá trị hấp thu (A2- A1) của mẫu để suy ra nồng độ
- Chỉ số tham khảo: nồng độ chuỗi Lambda 330-720 mg/dl

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng MSDS để tham khảo các hóa chất nguy hiểm
- Giá trị đo được là giá trị tổng của toàn bộ chuỗi protein; chia 3 để đạt được giá trị nồng độ của chuỗi nhẹ.

106. ĐỊNH LƯỢNG CHUỖI LAMBDA TỰ DO

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng chuỗi nhẹ Lambda tự do có thể hỗ trợ lâm sàng trong chẩn đoán và theo dõi bệnh đa u tủy xương, u lympho, bệnh đại phân tử Waldenström, thoái hóa dạng tinh bột amyloid, bệnh lắng đọng chuỗi nhẹ và các bệnh mô liên kết như lupus ban đỏ hệ thống.

Nguyên lý: Dựa trên nguyên lý miễn dịch. Sử dụng phương pháp miễn dịch đo độ đục có tăng cường các vi hạt latex. Chuỗi nhẹ Lambda tự do có trong mẫu huyết thanh hoặc nước tiểu sẽ kết hợp với các vi hạt latex đã được bao phủ trên bề mặt bởi lớp kháng thể kháng Lambda, tạo thành phức hợp ngưng kết miễn dịch. Do lượng các kháng thể là dư thừa nên phức hợp miễn dịch được hình thành tỷ lệ thuận với nồng độ kháng nguyên (chất cần phân tích). Tiến hành xác định độ đục của phức hợp này bằng phương pháp đo quang bước sóng 600 nm. Dựa trên đường cong chuẩn để tính được nồng độ chuỗi nhẹ Lambda tự do cần phân tích trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh, miễn dịch và 01 kỹ thuật viên

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy phân tích hóa sinh như AU 400, 640, 2700, 5800 và một số máy khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, ống sample cup
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Hóa chất

- Thuốc thử 1 (R1): Có các kháng thể đặc hiệu bao phủ lên các vi hạt latex. Chất bảo quản: 0.05% ProClin™, 0.1% E-amino-n-caproic acid (EACA) và 0.01% benzamidine
- Thuốc thử 2 (R2): Dung dịch chuẩn có nguồn gốc từ huyết thanh người có chứa kháng nguyên đa giá của chuỗi nhẹ Lambda tự do. Được đóng lọ dưới dạng dung dịch có tính ổn định cao có chứa 0.099% Natri azide, 0.1% EACA và 0.01% benzamidine có tác dụng như chất bảo quản.

- Thuốc thử bổ sung: có chứa 0.099% sodium azide có tác dụng như chất bảo quản.
- Các mẫu QC được lấy từ huyết thanh của người tự nguyện khỏe mạnh đã sàng lọc các yếu tố nguy cơ gây nhiễm HIV, viêm gan B, C,...

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. Không được để trong ngăn đá của tủ lạnh

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay
- Bông , côn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

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

4. Phiếu xét nghiệm: Theo quy định, có chỉ định làm xét nghiệm Lambda tự do.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Thực hiện trên mẫu máu: Dùng huyết thanh (không dùng chất chống đông)
- Thực hiện trên mẫu nước tiểu tươi

Tính ổn định của mẫu: Mẫu ổn định 21 ngày/ nhiệt độ 2-8°C; nếu bảo quản lâu hơn ở nhiệt độ (-20°C) hoặc thấp hơn nữa. Mẫu huyết thanh hoặc nước tiểu chỉ được chỉ được đông một lần

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dụng cụ 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

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và vận hành theo protocol máy sẽ tự động phân tích

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo:

+ Huyết thanh người bình thường: Khi phân tích mẫu huyết thanh của 282 người tự nguyện, khỏe mạnh có độ tuổi từ 20 - 90 tuổi có kết quả theo bảng sau:

| | Trị số trung bình (mg/L) | SD | Khoảng 95 % bách phân vị (mg/L) |
|------------------------|------------------------------------|-----------|---|
| Kappa tự do | 8.36 | 7.3 | 3.3 – 19.4 |
| Lambda tự do | 13.43 | 12.4 | 5.71 – 26.3 |
| Tỷ số κ/λ | 0.63 | 0.6 | 0.26 – 1.65 |

+ Nước tiểu người bình thường: Khi phân tích 66 mẫu nước tiểu người bình thường, tự nguyện khỏe mạnh có kết quả theo bảng sau:

| | Trị số trung bình | SD | 95 % bách phân vị | Tỷ số κ/λ và khoảng 95 % Bách phân vị |
|--------------|--------------------------|-----------|--------------------------|--|
| Kappa tự do | 5.40 (mg/L) | 4.95 | 0.39 - 15.1 (mg/L) | 1.852 |
| Lambda tự do | 3.17 (mg/L) | 3.30 | 0.81 - 10.1 (mg/L) | 0.461 – 4.00 |

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả khi:

Mẫu máu bị huyết tán, nồng độ bilirubin > 200mg/L.

Mẫu nước tiểu để lâu bị nhiễm khuẩn.

- Xử trí: Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu, mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại lấy mẫu máu khác thay thế.

107. ĐỊNH LƯỢNG LEPTIN

Leptin là một hormone có trọng lượng phân tử 16 kDa gồm 167 axit amin, đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh năng lượng ăn vào và năng lượng tiêu thụ, bao gồm cả sự thèm ăn/đói và quá trình trao đổi chất. Nó là một trong những hormone có nguồn gốc từ mỡ quan trọng nhất. Gen Ob(Lep) trong đó Ob là obese, và Lep là leptin nằm trên nhiễm sắc thể số 7 của người. Leptin tác động lên các thụ thể trong vùng dưới đồi của não để ức chế sự thèm ăn. Sự vắng mặt của leptin (hoặc thụ thể của nó) dẫn đến không kiểm soát được lượng thức ăn và dẫn đến béo phì.

I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng leptin trong huyết thanh và huyết tương người.

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên-kháng thể theo phương pháp sandwich: các giếng được phủ với kháng thể đơn dòng đặc hiệu cho leptin. Mẫu người bệnh có chứa leptin sẽ được ủ trong các giếng cùng với antiserum (kháng thể liên hợp biotin đơn dòng). Một phức hợp sandwich hình thành. Sau khi ủ và rửa đi những phần không kết hợp, enzym liên hợp được thêm vào, tiếp là cơ chất và cuối cùng là thêm dung dịch ngừng phản ứng. Độ đậm màu tỉ lệ thuận với nồng độ leptin trong mẫu, được đo ở bước sóng 450 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng DRG, Đức (EIA-2395)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng) + Enzym liên hợp
- + Chuẩn: 6 lọ (dạng đông khô) + Cơ chất
- + Control cao và thấp (dạng đông khô) + Dung dịch rửa
- + Dung dịch đệm + Dung dịch ngừng phản ứng
- + Antiserum
- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
- + Pipet chính xác + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một lần + Nước cất

3. Người bệnh

Người bệnh không cần nhịn đói hay đòi hỏi yêu cầu gì đặc biệt

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi thông tin đầy đủ của người bệnh.

III. Các bước tiến hành

1. Lấy bệnh phẩm

- Sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương

+ Huyết thanh: Thu thập máu, để co cục máu hoàn toàn, ly tâm ở nhiệt độ phòng. Những người bệnh dùng thuốc chống đông cần để thời gian co cục máu lâu hơn.

+ Huyết tương: Ly tâm ngay sau khi thu thập máu vào ống có chất chống đông.

- Bảo quản: Mẫu nên được tách tube và bảo quản ở 2 - 8° C trong 24 giờ, lâu hơn ở - 20° C, mẫu sau khi rã đông nên được lắc đều trước khi dùng.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

2.1.1. Dung dịch rửa:

Hòa 30 ml dung dịch rửa với 1170 ml nước cất để được dung dịch 1200 ml.

Sau khi pha, ổn định 2 tuần ở nhiệt độ phòng.

2.1.2. Chuẩn:

- Nồng độ chuẩn từ S0 - S5 lần lượt là: 0 ng/mL; 2 ng/mL; 5 ng/mL; 25 ng/mL; 50 ng/mL; 100 ng/mL

- Cho 0,5 ml nước cất vào lọ chuẩn (dạng đông khô), để tối thiểu 10 phút, lắc đều trước khi sử dụng.

- Ổn định ít nhất 6 tuần khi bảo quản ở 2 - 8° C, lâu hơn ở - 20° C

2.1.3. Control: Lot: 2395

- Control mức thấp : 1,62 - 4,28 ng/mL và Control mức cao: 51,52 - 76,20 ng/mL

- Cho 0,5 ml nước cất vào lọ Control (dạng đông khô), để tối thiểu 10 phút, lắc đều trước khi sử dụng.

- Ổn định ít nhất 6 tuần khi bảo quản ở 2 - 8° C, lâu hơn ở - 20° C

2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng 210 phút.
- Vệ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

- + Hút 15 μ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- + Hút 100 μ l dung dịch đệm tiếp vào các giếng. Trộn đều trong 10 giây.
- + Ủ 120 phút trong nhiệt độ phòng
- + Rửa các giếng 3 lần với 300 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100 μ l Antiserum vào mỗi giếng
- + Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng
- + Rửa các giếng 3 lần với 300 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 100 μ l enzym liên hợp vào mỗi giếng
- + Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng
- + Rửa các giếng 3 lần với 300 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100 μ l cơ chất vào mỗi giếng.
- + Ủ 15 phút ở nhiệt độ phòng.
- + Hút 50 μ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng
- + Tiến hành đo trong vòng 10 phút

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham khảo:

Nam: 2,05 - 5,63 ng/mL Nữ: 3,63 - 11,09 ng/mL

- Ý nghĩa lâm sàng:

+ Mức độ leptin giảm sau khi nhịn ăn ngắn hạn (24 -72 giờ), béo phì, mất ngủ, tập thể dục...

+ Mức độ leptin tăng khi bị căng thẳng cảm xúc...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

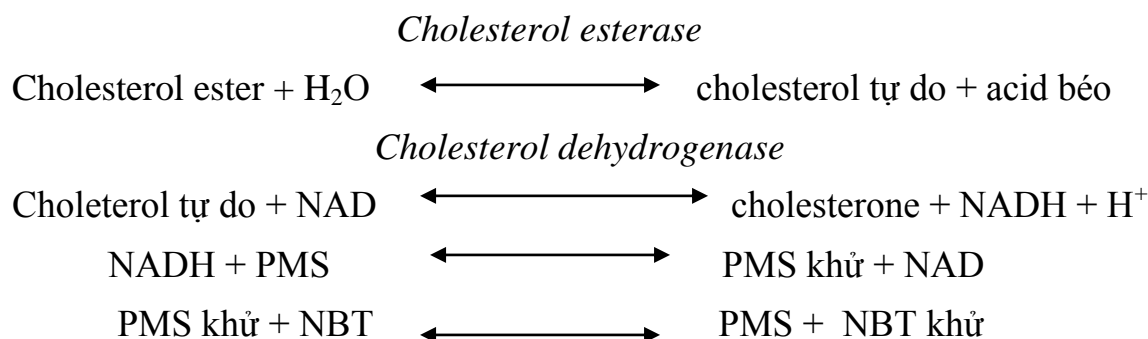
- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Không dùng mẫu có chứa Natri azide

- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút).
- Mẫu có kết quả vượt quá 100 ng/mL thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch S0.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

108. ĐIỆN DI LDL/HDL - CHOLESTEROL

I. NGUYÊN LÝ

Điện di trên gel agarose để tách các thành phần LDL, VLDL, HDL cũng như chylomicron dựa trên độ tích điện và khối lượng phân tử của các thành phần. Các thành phần được phát hiện bằng phản ứng enzym so màu sau đây:



II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, Cử nhân, hoặc kỹ thuật viên được tập huấn sử dụng máy

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện: Máy Hydrasys của hãng Sebia Pháp

2.2. Hóa chất: Được cung cấp bởi hãng đặt máy, gồm

+ Agarose gel: Gel có chứa agarose 0,65g/dL; kiềm đệm pH 8,9±0,1. Lưu trữ các gel theo chiều ngang trong bì ở nhiệt độ phòng (15-30°C) hoặc lạnh (2-8°C), ổn định cho đến ngày hết hạn ghi trên gói kit. Tránh lưu trữ gần cửa sổ hoặc một nguồn nhiệt.

Loại bỏ khi:

Dạng tinh thể hoặc dạng tủa trên bề mặt gel hoặc kết cấu gel trở nên rất mềm.

Sự phát triển của vi khuẩn hay nấm mốc

Số lượng bất thường của chất lỏng ở mặt trong hộp gel

+ Dung dịch đệm: chứa natri acid 0,3% khi tiếp xúc với da, hãy rửa ngay với thật nhiều nước. Lưu trữ các dải đệm theo chiều ngang trong bao bì bảo vệ ban đầu, trong tủ lạnh (2-8°C). Chúng ổn định cho đến ngày hết hạn ghi trên gói kit hoặc đệm nhãn gói dải. Vứt bỏ đệm dải nếu gói được mở ra và các dải khô.

+ Dung môi hòa tan cơ chất: gồm NaCl. Lưu trữ dung môi hòa tan cơ chất ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh, ổn định đến ngày hết hạn ghi trên gói bộ hoặc bề mặt lọ. Loại bỏ dung môi nếu trở nên đục do nhiễm khuẩn.

+ Chromogen: gồm NitroBlue Tetrazolium và Phenazine Methosulfate. Lưu trữ chromogen ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh, ổn định đến ngày hết hạn ghi trên gói kit. Loại bỏ nếu nó trở nên đục do nhiễm khuẩn.

+ Enzym: Mỗi lọ enzym chứa Cholesterol Esterase, Cholesterol Dehydrogenase, Nicotinamide Adenine Dinucleotide. Enzym lưu trữ trong tủ lạnh (2 – 8°C). Chúng được ổn định đến ngày hết hạn ghi trên gói kit.

HYDRAGEL LDL / HDL Chol

- Applicator: dùng 1 lần, lưu trữ ở nơi khô ráo, ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh.

- Giấy lọc mỏng: dùng một lần, để thấm độ ẩm quá mức khỏi bề mặt gel trước khi thực hiện mẫu. Lưu trữ các giấy tờ lọc mỏng ở nơi khô ráo, ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh.

- Giấy lọc dày: dùng một lần, để thấm dung dịch thừa ra khỏi bề mặt gel trước khi rửa. Lưu trữ ở nơi khô ráo ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh.

3. Người bệnh

Gồm những người bệnh khám và điều trị tại bệnh viện được các bác sĩ lâm sàng chỉ định.

4. Phiếu xét nghiệm

Theo mẫu quy định của bệnh viện và Bộ Y tế

Cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán, ghi rõ chỉ định xét nghiệm, thời gian lấy mẫu, loại mẫu...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Dùng Huyết thanh, lấy mẫu ở những người bệnh nhịn ăn ít nhất 12 giờ. Bảo quản mẫu 2-8°C, thực hiện càng sớm càng tốt sau khi thu thập và < 3 ngày. Không làm đông lạnh các mẫu. Không sử dụng các mẫu được thu thập trên ống heparin.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Bật máy HYDRASYS
- Nhỏ 10µl mẫu trong từng giếng, nhỏ mẫu trong vòng 2 phút.
- Đặt applicator vào buồng hút âm
- Mẫu khuếch tán vào những răng của applicator trong 5 phút.

- Chọn chương trình chạy điện di trên màn hình của máy
- Mở dải đệm từ gói bảo quản, mở tấm gel agarose.
- Dùng giấy lọc mỏng để hấp thụ lượng dư thừa của dung dịch bảo quản. Lấy giấy ra ngay lập tức.
- Nhỏ 120µl nước cất, đặt tấm gel, kết thúc ở viên dưới cùng của khung, chú ý không có bọt khí bị mắc kẹt, nước được lan truyền bên dưới toàn bộ tấm gel và gel được xếp với khung in.
- Đặt điện cực vào giá đỡ ở vị trí số 3
 - Đóng nắp module và nhấn "START" trên màn hình máy.
 - Sau đó là quá trình sấy khô, rửa, nhuộm, scan và phân tích kết quả.
 - Trong mỗi lần thực hiện kỹ thuật nên thực hiện kèm 1 mẫu Control.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Đo mật độ quang ở bước sóng 570nm, tính được nồng độ tương đối (phần trăm) giữa các dải. Các thành phần có thể khác nhau. Điều này phụ thuộc vào sự có mặt hay vắng mặt của VLDL.

Tính HDL cholesterol và nồng độ cholesterol LDL với các công thức sau đây:

Cholesterol toàn phần (mg/dL hoặc mmol/L) x tỷ lệ phần trăm HDL

Cholesterol toàn phần (mg/dL hoặc mmol/L) x tỷ lệ phần trăm LDL

| | Cholesterol toàn phần | HDL cholesterol (HYRYS - GELSCAN) | LDL cholesterol (HYRYS - GELSCAN) |
|-----|-------------------------------|---|---|
| Nữ | ≤ 2,00 g/L hoặc ≤ 5,17 mmol/L | 0,40 - 1,00 g/L hoặc 1,03 - 2,59 mmol/L | 0,66 - 1,36 g/L hoặc 1,70 - 3,53 mmol/L |
| Nam | ≤ 2,00 g/L hoặc ≤ 5,17 mmol/L | 0,33 - 0,84 g/L hoặc 0,84 - 2,17 mmol/L | 0,69 - 1,49 g/L hoặc 1,79 - 3,84 mmol/L |

Các yếu tố nguy cơ khác bao gồm tuổi, tiền sử gia đình bệnh tiểu đường, bệnh mạch vành, tăng huyết áp và hút thuốc lá.

Người ta đã ghi nhận rằng nguy cơ các bệnh tim mạch tăng lên với sự gia tăng tỷ lệ phần trăm của lipoprotein trọng lượng phân tử thấp trong huyết thanh. Mặt khác, Lipoprotein trọng lượng phân tử cao (HDL) chống xơ vữa động mạch bằng cách loại bỏ cholesterol từ các mô gan là cơ quan duy nhất có thể dị hóa và bài tiết. Thành phần lipid, như cholesterol, có thể đóng vai trò khác nhau tùy thuộc vào lipoprotein đã vận chuyển nó. Vì vậy, để đánh giá nguy cơ bệnh tim của một rối loạn lipoprotein máu, là

cần thiết để định lượng cholesterol trong các phân đoạn lipoprotein, chủ yếu là LDL và HDL.

Nghiên cứu gần đây tại Viện Y tế Quốc gia (NIH Bethesda, Mỹ) đã chỉ ra rằng nguy cơ phát triển bệnh xơ vữa động mạch vành có liên quan đến tỷ lệ LDL cholesterol / HDL cholesterol: tỷ lệ càng cao, nguy cơ càng cao. Trong trường hợp cholesterol máu thấp hơn bình thường là điều cần thiết để điều tra sự phân bố cholesterol trong lipoprotein khác nhau trước khi quyết định bất kỳ điều trị.

V. SAI SÓT – XỬ TRÍ

- Không sử dụng các mẫu được thu thập trên ống heparin, hoặc đã được đông lạnh
- Ngày nay định lượng LDL-C và HDL-C trực tiếp trên máy sinh hóa tự động cho kết quả nhanh và chính xác hơn điện di, tuy nhiên thành phần VLDL không định lượng được nên có thể áp dụng phương pháp điện di này để tính giá trị VLDL tương đối, giúp cho các bác sĩ lâm sàng.

109. ĐO HOẠT ĐỘ LIPASE

I. NGUYÊN LÝ

Lipase là enzyme thủy phân lipid.

Hoạt độ của enzym Lipase trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp enzym so màu theo phản ứng :

Lipase

1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6-methylresorufin) ester =>
1,2-O-dilauryl-rac-glycerol + glutaric acid-(6-methylresorufin) ester.

Glutaric acid-(6-methylresorufin) ester => glutaric acid + methylresorufin.

Cường độ màu (màu đỏ) hình thành tỷ lệ thuận với hoạt độ Lipase và có thể đo được ở bước sóng 570 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Lipase, chất chuẩn Lipase, chất kiểm tra chất lượng Lipase.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH₄-heparin hoặc EDTA (nếu dùng EDTA, kết quả thấp hơn 5-10% so với huyết thanh). Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 7 ngày ở 15°C đến 25°C, 1 năm ở -15°C đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Lipase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Lipase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Lipase đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Trị số bình thường: 13 - 60 U/L

+ Lipase máu tăng trong: Bệnh tụy viêm tụy cấp Lipase tăng cao và trở về bình thường chậm hơn Amylase. Tắc ống dẫn tụy do sỏi hay co thắt. Ngoài ra còn tăng trong các bệnh như thủng, u đường tiêu hóa nhất là có liên quan đến tụy. Tổn thương tổ chức mỡ sau chấn thương, một số trường hợp xơ gan.

Lipase huyết tương luôn bình thường trong bệnh quai bị.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1000 mg/dL .

- 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 kết quả).

110. ĐỊNH LƯỢNG LH (Luteinizing hormone)

LH là hormone sinh dục do tuyến yên tiết ra, có tác dụng làm phát triển cả về kích thước và chức năng tuyến sinh dục (buồng trứng, tinh hoàn). Là một glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 29 500 dalton. Ở nữ, LH hoạt động theo trục vùng dưới đồi, tuyến yên, buồng trứng và nồng độ thay đổi theo chu kỳ kinh nguyệt. Nồng độ cao nhất vào giữa chu kỳ kinh nguyệt, gây rụng trứng và tạo hoàn thể. Kích thích sản xuất progesterone và testosterone.

I. NGUYÊN LÝ

LH được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. LH trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng LH từ chuột, gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng LH từ chuột, được đánh dấu bằng ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ LH có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện:

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8⁰C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: ba mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

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

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

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc

huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 14 ngày, ở - 20⁰C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm. Để tránh những ảnh hưởng đến kết quả, bệnh phẩm, chuẩn cũng như control phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 3 miền: thấp, bình thường và cao. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV.NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: Nam giới: 1.7 – 8.6 mIU/ml

Nữ giới :

Pha nang: 3.4- 12.6 mIU/ml

Pha rụng trứng : 14.0 – 95.6 mIU/ml

Thể vàng : 1.0 – 11.4 mIU/ml

Tiền mãn kinh : 7.7 – 58.5 mIU/ml

- LH máu tăng trong:

- + Dậy thì sớm do nguyên nhân dưới đồi yên
- + Mang thai
- + Thiếu năng buồng trứng hay tinh hoàn
- + Mãn kinh sớm
- + Hội chứng Klinefelter (XXY), Hội chứng Turner

- LH máu giảm trong:

- + Thiếu năng vùng dưới đồi yên.
- + Suy thùy trước tuyến yên.

Suy tinh hoàn, tăng sản hay u thượng thận

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|--|---|--|
| Bệnh phẩm lấy và ống sodium citrate | Kết quả thấp hơn so với dùng huyết thanh khoảng 10% | Không dùng loại chất chống đông này |
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 1129 $\mu\text{mol/L}$, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng biotin | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ > dải đo (0,1-200mIU/mL) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |
| Nồng độ >1150 mIU/mL | Hiệu ứng hook-effect | Pha loãng bệnh phẩm |

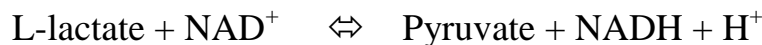
111. ĐO HOẠT ĐỘ LDH (Lactate dehydrogenase)

I. NGUYÊN LÝ

LDH (Lactate dehydrogenase) là enzym ở mọi tế bào, đặc biệt có nhiều ở gan, tim, cơ xương....LDH là enzym xúc tác biến đổi Pyruvat thành Lactat, phản ứng cần coenzym là NADH. Xét nghiệm LDH thường được chỉ định trong bệnh lý gan, tim...

Hoạt độ của enzym LDH trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym.

LDH



Dưới tác dụng của LDH, lactate và NAD^+ được biến đổi thành pyruvat và NADH. Hoạt độ của LDH được đo bằng sự gia tăng của NADH theo thời gian ở bước sóng 340 nm..

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm LDH, chất chuẩn LDH, chất kiểm tra chất lượng LDH.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH_4 -Heparin. Không dùng các chất chống đông khác cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 4 ngày ở $2-8^\circ\text{C}$, 7 ngày ở 15°C đến 25°C , 6 tuần ở -15°C đến -25°C .

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Trị số bình thường: 240-480 U/L.

+ LDH máu tăng trong: Nhồi máu cơ tim, nhồi máu phổi, Bệnh gan (vàng da tắc mật, di căn ung thư, viêm gan cấp), Bệnh cơ (chấn thương, phẫu thuật), Thiếu máu ác tính, Bệnh bạch cầu đơn nhân, Leucemia, Ung thư (phổi, xương, ruột non, gan, vú, cổ tử cung, tinh hoàn, thận, dạ dày).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.

+ Tán huyết: Không dùng mẫu bệnh phẩm tán huyết ở bất kỳ mức độ nào cho xét nghiệm LDH.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1000 mg/dL .

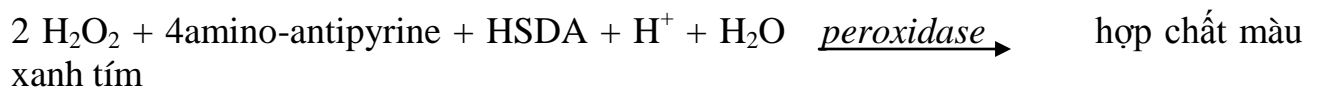
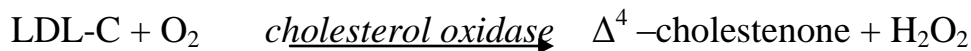
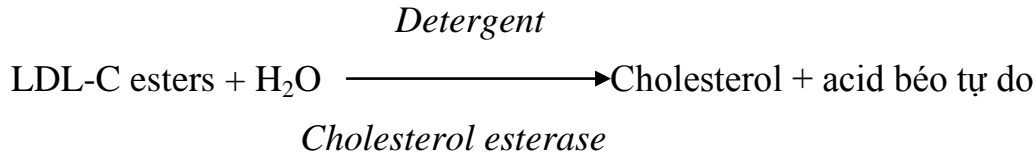
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

112. ĐỊNH LƯỢNG LDL-C (Low Density Lipoprotein cholesterol)

I. NGUYÊN LÝ:

LDL-C (Low Density Lipoprotein cholesterol) là thành phần chính gây nên quá trình xơ vữa động mạch, đặc biệt là xơ vữa mạch vành.

LDL-C được định lượng theo phương pháp enzyme so màu



II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: MOPS, HSDA, peroxidase ...

R 2: MOPS, cholesterol esterase, cholesterol oxidase, 4amino-antipyrine, peroxidase, detergent ...

Bảo quản ở 2-8⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 12 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, NaCl 9%
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

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

4. **Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. **Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 7 ngày, ở - 60⁰C được 1 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu: $\leq 3,4$ mmol/L
- LDL-C tăng là một trong những yếu tố dự báo nguy cơ bệnh xơ vữa động mạch, bệnh tim mạch.

VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|--|-------------------------|----------------------------|
| Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng EDTA | Có thể làm giảm kết quả | Không sử dụng loại ống này |
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin tăng, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc | Kết quả ít bị ảnh hưởng | |
| Nồng độ > dải đo (0,1-14,2 mmol/L) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |

113. ĐIỆN DI LIPOPROTEIN

I. NGUYÊN LÝ

Dùng dòng điện 1 chiều để dịch chuyển các tiểu phân tử lipoprotein trên môi trường gel dựa trên lực Lorenz. Những phân tử khác nhau sẽ dịch chuyển với tốc độ khác nhau mà ta có thể quan sát được trên điện di đồ.

Tốc độ di chuyển này được quyết định bởi 3 yếu tố: điện tích, kích thước và khối lượng phân tử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy điện di tự động.
- Hóa chất: Hóa chất được bảo quản ở 2- 8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

5. Bệnh phẩm

Lấy 3 ml máu vào ống không chống đông

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Ly tâm tách huyết thanh

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di lipoprotein.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm điện di lipoprotein theo protocol của máy.
- Tiến hành chuẩn điện di lipoprotein.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di lipoprotein. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo protocol của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường:

- α -lipoprotein: $32,8 \pm 7,7\%$;
- Pre β -lipoprotein: $22,6 \pm 8,1\%$
- β -lipoproterin: $44,2 \pm 7,0\%$

2. Điện di lipoprotein thay đổi trong:

Rối loạn chuyển hóa lipid

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Mẫu máu phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, không có chứa chất chống đông, bảo quản ở 2-8⁰C.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

114. ĐỊNH LƯỢNG LP – PLA2 (Lipoprotein - associated phospholipase A2)

Lp-PLA2 là một lipoprotein kết hợp với phospholipase A2 (Lp-PLA2) có trọng lượng phân tử 45 kDa, gồm 441 axit amin. Trong máu, nó di chuyển chủ yếu dưới dạng kết hợp lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL). Dưới 20% được kết hợp với lipoprotein tỷ trọng cao (HDL). Nó là một loại enzyme được sản xuất bởi các tế bào viêm và thủy phân phospholipids trong LDL. Nó như một chỉ điểm viêm đặc hiệu cho mạch máu, có liên quan đến sự hình thành các mảng xơ vữa giòn, dễ vỡ.

I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng Lp-PLA2 trong huyết thanh và huyết tương người.

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên-kháng thể, theo phương pháp sandwich: các giếng được phủ kháng thể đặc hiệu cho Lp-PLA2 người. Standard, mẫu và Biotin-kháng thể được thêm vào, Lp-PLA2 trong mẫu kết hợp với kháng thể phủ trên giếng và Biotin-kháng thể mới được thêm vào. Sau khi rửa đi các Biotin-kháng thể không kết hợp, HRP- Avidin liên hợp được thêm vào. Tiếp sau khi các giếng được rửa lần hai, cơ chất TMB được thêm vào giếng. Tiếp theo, dung dịch ngừng phản ứng thêm vào sẽ chuyển từ màu xanh sang vàng, đậm độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ Lp-PLA2 trong mẫu thử, được đo ở bước sóng 450 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng Cusabio (CSB-E08319h)
- Đĩa phản ứng (96 giếng)
- Biotin-kháng thể
- Chuẩn (dạng đông khô)
- Avidin-HRP
- Dung dịch hòa loãng mẫu
- Dung dịch rửa
- Dung dịch hòa loãng Biotin-kháng thể

- Cơ chất TMB
- Dung dịch hòa loãng Avidin-HRP
- Dung dịch ngừng phản ứng

Trong đó: Avidin-HRP là Avidin liên kết với HRP (Horseradish Peroxidase). TMB: 3,3',5,5' tetramethyl-benzidine.

- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
- + Pipet chính xác
- + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một lần
- + Nước cất
- + Control mức cao và thấp

3. Người bệnh

- Không cần nhịn đói hay yêu cầu đặc biệt gì khác.
- Một số đối tượng mà BS thường chỉ định xét nghiệm này: Người bệnh tai biến mạch máu não, rối loạn Lipid máu, tăng huyết áp, nhồi máu cơ tim, đột quỵ...

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

III. Các bước tiến hành

1. Lấy bệnh phẩm

- Sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng citrate, EDTA, heparin.
- Huyết thanh : sau khi lấy mẫu thì để 30 phút, co cục máu, rồi ly tâm 3000 vòng/phút x 10 phút. Tách ngay ra tube và bảo quản ở - 20° C. Khi chạy mẫu thì ly tâm lại sau khi làm rã đông. Chỉ rã đông một lần.
- Huyết tương: tương tự như trên nhưng phải ly tâm ngay sau khi lấy mẫu, không để quá 30 phút.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

2.1.1. Dung dịch rửa

Hòa 20 ml dung dịch rửa với nước cất để được dung dịch 500 ml.

2.1.2. Chuẩn (S0-S7)

- Ly tâm lọ chuẩn (dạng đông khô) với tốc độ 6000 vòng / phút trong 30 giây.

- Thêm 1ml dung dịch hòa loãng vào lọ chuẩn (dạng đông khô) để được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 200 IU/mL (S7), để ít nhất 15 phút, lắc đều.

- Hòa tiếp nhiều lần để được các dung dịch chuẩn trực dụng (S6-S1) có nồng độ lần lượt là 100 IU/mL; 50 IU/mL; 25 IU/mL; 12,5 IU/mL; 6,25 IU/mL; 3,12 IU/mL. S0 có nồng độ 0 IU/mL.

2.1.3. *Biotin-antibody*: (Biotin gắn với kháng thể)

Pha theo tỉ lệ Biotin-kháng thể : Dung dịch hòa loãng Biotin-kháng thể là 1:100

2.1.4. *Avidin-HRP*:

Pha theo tỉ lệ Avidin-HRP : Dung dịch hòa loãng Avidin-HRP là 1:100

2.2. **Tiến hành**

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.

- Tổng thời gian làm xét nghiệm Lp-PLA2 khoảng 470 phút.

- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu

Các bước tiến hành như sau:

+ Hút 100 µl mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng

+ Ủ 120 phút ở 37° C

+ Loại bỏ chất lỏng, không rửa

+ Hút 100 µl dung dịch Biotin-kháng thể trực dụng vào mỗi giếng

+ Ủ 60 phút ở 37° C

+ Rửa các giếng 3 lần với 200 µl dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.

+ Hút 100 µl dung dịch Avidin-HRP trực dụng vào mỗi giếng

+ Ủ 60 phút ở 37° C.

+ Rửa các giếng 3 lần với 200 µl dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.

+ Hút 90 µl cơ chất TMB vào mỗi giếng

+ Ủ 10 - 30 phút ở 37° C.

+ Hút 50 µl dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng

+ Tiến hành đo trong vòng 30 phút

IV. **NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham khảo:

Người lớn: 3,49 – 14,70 IU / mL

- Ý nghĩa lâm sàng: Lp – PLA2 tăng thì

- + Dự báo nguy cơ bệnh mạch vành và đột quy thường kết hợp với xơ vữa động mạch.
- + Có nguy cơ đột quy và nhồi máu cơ tim tăng gấp đôi
- + Cùng với huyết áp tâm thu cao nhất có nguy cơ đột quy tăng gấp 6 lần.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Mẫu có kết quả > 100 IU/mL thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch hòa loãng.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

115. ĐỊNH LƯỢNG MDA (Malondialdehyde)

Malondialdehyde (MDA) là một hợp chất hữu cơ với công thức.

$\text{CH}_2(\text{CHO})_2$. Loại phản ứng này xảy ra tự nhiên và là một dấu ấn sinh học của tình trạng stress oxy hóa. MDA được tạo ra từ các phản ứng oxy hóa acid béo không bão hòa. MDA phản ứng với deoxyadenosine và deoxyguanosine trong ADN, tạo thành các sản phẩm, chủ yếu là M_1G gây đột biến.

I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng MDA trong huyết thanh và huyết tương người

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên - kháng thể, theo phương pháp cạnh tranh: các giếng được phủ bởi kháng thể đặc hiệu cho MDA. Standard, control và mẫu được thêm vào các giếng cùng với HRP-liên hợp rồi được ủ. Một phản ứng cạnh tranh xảy ra giữa MDA (trong mẫu, standard, control) và HRP-liên hợp để kết hợp với kháng thể phủ trên giếng. Lượng MDA trong mẫu càng nhiều thì lượng kháng thể kết hợp với HRP-liên hợp càng ít. Sau đó cơ chất được thêm vào giếng, rồi dung dịch ngừng phản ứng được thêm vào.

Đậm độ màu tỉ lệ nghịch với nồng độ MDA trong mẫu thử, được đo với bước sóng 450 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng Cusabio (CSB-E08557h)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Cơ chất A
- + Chuẩn (S1- S5): 1ml
- + Cơ chất B
- + HRP-liên hợp
- + Dung dịch ngừng phản ứng
- + Dung dịch rửa

Trong đó: HRP(horseradish peroxidase) là chất đánh dấu

- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
- + Pipet chính xác
- + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một lần
- + Nước cất
- + Control mức cao và mức thấp

1. Người bệnh

Người bệnh không cần nhịn đói hay yêu cầu đặc biệt gì

2. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế qui định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

III. Các bước tiến hành

1. Lấy bệnh phẩm

- Sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng citrate, EDTA, heparin.
- Huyết thanh : sau khi lấy mẫu thì để 30 phút, co cục máu, sau đó ly tâm 3000 vòng/10 phút. Tách ngay ra tube và bảo quản ở - 20° C. Ly tâm lại sau khi làm rã đông mỗi khi chạy mẫu. Chỉ rã đông một lần.
- Huyết tương: tương tự như trên nhưng phải ly tâm ngay sau khi lấy mẫu, không để quá 30 phút.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

2.1.1. Dung dịch rửa:

Hòa 15 ml Wash Buffer với nước cất để được dung dịch 300 ml.

2.1.2. Chuẩn:

- Nồng độ S1- S5 lần lượt là: 40µg/L; 10 µg/L; 2 µg/L; 0,4 µg/L; 0,1 µg/L
- Sẵn sàng để sử dụng.
- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng 100 phút
- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

2.2. Các bước tiến hành

- Hút 50 μ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- Hút 50 μ l HRP-liên hợp cho vào tiếp các giếng trộn đều
- Ủ 60 phút ở 37° C
- Rửa các giếng 3 lần với 200 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- Hút 50 μ l cơ chất A và cơ chất B vào mỗi giếng
- Ủ 15 phút ở 37° C, tránh ánh sáng
- Hút 50 μ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng
- Tiến hành đo trong vòng 10 phút.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham khảo:
Người lớn: 0,78 – 19,27 μ g/L
- Ý nghĩa lâm sàng:
+ MDA là dấu ấn của tình trạng chống oxi hóa ở những người bệnh ung thư.
+ MDA tăng trong tiền ung thư và các người bệnh ung thư so với những người bình thường khỏe mạnh.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống \rightarrow lấy lại.
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng.
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút).
- Mẫu có kết quả vượt quá 40 μ g/L thì phải hòa loãng mẫu với nước cất.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

116. ĐỊNH LƯỢNG MPO (Myeloperoxydase)

MPO (Myeloperoxydase) là enzyme do bạch cầu tiết ra, có vai trò trong việc tiêu diệt các vi khuẩn gây bệnh, ngoài ra cũng có vai trò trong oxy hóa lipid đặc biệt là LDL-C, do vậy nó liên quan với quá trình xơ vữa mạch máu. MPO được tích lũy trong các mảng xơ vữa mạch máu, đặc biệt các mảng xơ vữa đã mất tính ổn định và có thể bong ra, đi vào tuần hoàn và có thể gây ra những tai biến như NMCT, NMN...chính vì vậy MPO được nghiên cứu trong nhiều bệnh lý tim mạch và được coi là yếu tố tiên lượng nguy cơ tim mạch ở người bệnh xơ vữa mạch máu. Bên cạnh đó, ở người bệnh suy tim cũng thấy sự tăng nồng độ của MPO, sự thay đổi nồng độ này có liên quan đến mức độ suy tim.

I. NGUYÊN LÝ

MPO được định lượng theo nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Xét nghiệm MPO là xét nghiệm miễn dịch hai bước để định lượng MPO

Ở bước một, MPO có trong mẫu bệnh phẩm kết hợp với anti MPO được phủ trên các vi hạt thuận từ theo phản ứng kết hợp kháng nguyên- kháng thể. Sau khi rửa, thêm anti-MPO có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) ở bước hai để tạo phức hợp kháng thể - kháng nguyên –kháng thể dạng sandwich. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng MPO trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm miễn dịch Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm MPO, chất chuẩn MPO, chất kiểm tra chất lượng MPO.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống có chất chống đông là EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết tương.
- Mẫu ổn định trong 7 ngày ở 2-8 °C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm MPO. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm MPO. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm MPO đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị bình thường
 - + Nam < 354.3 pmol/L
 - + Nữ < 246.6 pmol/L
- MPO máu tăng trong:
 - + Các trường hợp xơ vữa mạch máu và được coi là yếu tố tiên lượng hội chứng vành cấp.
 - + Giúp ích trong phân loại người bệnh suy tim.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm:
 - + Sử dụng nhầm chất chống đông: Xét nghiệm MPO yêu cầu sử dụng chất chống đông là EDTA.

+ Khắc phục cần huấn luyện cán bộ lấy mẫu sử dụng đúng ống đựng mẫu và người nhận mẫu cũng cần biết rõ mẫu nào đúng yêu cầu của xét nghiệm.

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 20 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.5g / dL

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 3000 mg/dl.

+ Protein thấp 3g/dL hay cao 12 g/dL

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm (trừ trường hợp protein máu thấp) 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 kết quả).

117. ĐỊNH LƯỢNG MYOGLOBIN

I. NGUYÊN LÝ

Phương pháp miễn dịch đo độ đục

Myoglobin trong huyết thanh phản ứng đặc hiệu với kháng thể kháng myoglobin được phủ trên bề mặt các hạt latex để tạo thành các hạt ngưng kết không tan. Sự hấp thụ ánh sáng của các hạt ngưng kết này tỷ lệ với nồng độ myoglobin trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên của phòng xét nghiệm có nhiệm vụ nhận và kiểm tra chất lượng của mẫu bệnh phẩm bằng cách đối chiếu với các tiêu chuẩn loại bỏ và thực hiện phân tích theo phương pháp đã được xác định.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700
- Máy ly tâm
- Hóa chất làm xét nghiệm Myoglobin (hãng Olympus)
- Huyết thanh kiểm tra cardiac marker mức 1
- Huyết thanh kiểm tra cardiac marker mức 2
- Huyết thanh kiểm tra cardiac marker mức 3
- Chuẩn Olympus Myoglobin Calibrator Cat.No ODR3025.
- Nước cất

3. Người bệnh

4. Phiếu xét nghiệm

Ghi đầy đủ thông tin cần thiết: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

2. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh
- Mẫu ổn định: ổn định khoảng 1 tuần khi bảo quản tại 2 đến 8°C và 2 ngày khi bảo quản tại 15 đến 25°C.
- Mẫu nhiễm mỡ nhiều không sử dụng được.

3. Tiến hành kỹ thuật

- Ly tâm ống máu 5 phút với vận tốc 5000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.
- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy Beckman Coulter.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:

+ Hàng ngày: Chạy 3 mức kiểm QC tra chất lượng hàng ngày vào buổi sáng và ít nhất sau mỗi 8 tiếng. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức QC nằm trong khoảng cho phép.

+ Định kỳ: Chuẩn lại và chạy 3 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 chuẩn máy XN.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

Nồng độ myoglobin huyết thanh: Nam: 19- 92 $\mu\text{g/L}$

Nữ: 12- 76 $\mu\text{g/L}$

2. Ý nghĩa lâm sàng

Myoglobin tăng cao trong máu có thể gặp sau tổn thương cơ xương hoặc cơ vân: chấn thương đụng giập, tăng ure máu, đột quỵ, viêm cơ, tiêm bắp, thể thao, bỏng và nhồi máu cơ tim. Các triệu chứng lâm sàng là cần thiết để xác định tăng myoglobin là do nhồi máu cơ tim hay tổn thương cơ vân. Mb tăng sau 2-4 h NMCT, trước khi có sự tăng TnI hoặc TnT, CK-MB; trở về bình thường trong vòng 24h. Trong tổn thương cơ vân, Mb tăng tương tự như sự tăng CK toàn phần. Mb là thông số hữu ích trong chẩn đoán NMCT và theo dõi điều trị huyết khối, tuy nhiên nó không đặc hiệu cho NMCT nên phải được xem xét cùng với các dấu ấn khác của tim.

Mb giảm có thể gặp khi xuất hiện kháng thể kháng Mb trong tuần hoàn như trong nhiều trường hợp người bệnh viêm đa cơ, viêm khớp dạng thấp.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

118. ĐỊNH LƯỢNG MAGIE

Magie là một cation quan trọng đối với cơ thể. Magie có mặt trong thành phần của khoảng 300 enzym khác nhau có vai trò điều hoà các chức năng và nhiều quá trình chuyển hoá năng lượng. Khoảng 50 – 70% lượng magie trong cơ thể tập trung ở xương, phần còn lại phân bố ở tổ chức cơ, tổ chức mô mềm và một lượng nhỏ trong máu. Lượng magie trong máu luôn duy trì từ ở mức ổn định để đảm bảo mọi hoạt động của cơ thể diễn ra bình thường. Magie cũng góp phần quan trọng trong chức năng hoạt động của tim.

I. NGUYÊN LÝ

Theo phương pháp đo màu, điểm cuối (end-point)

Mẫu bệnh phẩm cho thêm thuốc thử 1 (R1) (buffer/EGTA). Sau đó cho thêm thuốc thử 2 (R2) (xylidyl blue), phản ứng bắt đầu xảy ra trong dung dịch kiềm, magie tạo thành một phức hợp màu tím với xylidyl màu xanh, muối diazonium. Nồng độ magie được đo bằng máy quang kế tự động (hoặc bán tự động) thông qua việc giảm độ hấp thụ màu xanh xylidyl

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

2. **Phương tiện, hóa chất**

2.1. Phương tiện

Các máy phân tích hóa sinh tự động hoặc bán tự động.

2.2. Hóa chất

R1 TRISA/6-aminocaproic acid buffer: 500 mmol/L, pH 11.25; EGTA: 129 μ mol/L; chất bảo quản

R2 Xylidyl blue: 0.28 mmol/L; detergent; chất bảo quản

a) TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethane.

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- ống nghiệm;
- Găng tay; dây garô;
- Bông , cồn sát trùng
- Bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. **Người bệnh**

- Cần giải thích cho BN và người nhà về mục đích của XN
- Người bệnh cần ngừng thuốc có chứa magie 3 ngày trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Có y lệnh của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy máu vào ống chống đông Lithium heparin.
- Mẫu tránh vỡ hồng cầu, không garo quá chặt, quá lâu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

chuẩn máy bằng dung dịch chuẩn (một hoặc nhiều chuẩn =multical)

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

2.2. Phân tích mẫu

Sau khi lấy máu, cần ly tâm để tách huyết thanh/ huyết tương và được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm.

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); lựa chọn test và vận hành theo protocol, máy sẽ tự động phân tích.

III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo

Huyết thanh/ huyết tương: 1.59–2.56 mg/dL (1.3–2.1 mEq/L)

2-4 ngày tuổi: 1.46–2.20 mg/dL (1.2–1.8 mEq/L)

5 tháng-6 tuổi: 1.71–2.29 mg/dL (1.4–1.9 mEq/L)

6-12 tuổi: 1.71–2.07 mg/dL (1.4–1.7 mEq/L)

2-20 tuổi: 1.59–2.20 mg/dL (1.3–1.8 mEq/L)

Nước tiểu : 12.2-292 mg/24 giờ (1.0–24.0 mEq/24 h)

Nồng độ magie máu tăng

- Dùng các dung dịch truyền có Magie: Dùng thuốc trung hoà dịch vị có chứa magie ở người bệnh suy thận.

- Trong một số bệnh: Bệnh Addison; cắt bỏ tuyến thượng thận; mất nước nặng; Nhiễm toan ceton (đái tháo đường type 1); Cường cận giáp; Suy tuyến giáp; Kahler

Nồng độ magie máu giảm

+ Giảm hấp thu qua đường tiêu hóa: Suy dinh dưỡng; Hội chứng giảm hấp thu ; Nghiện rượu; Ỉa chảy, nôn nhiều ; Suy thận

+ Mất magie qua đường thận: dùng thuốc (lợi tiểu, gentamycin cisplatin, amphotericin B); Tồn thương ống thận; Cường Aldosteron; Suy cận giáp

• Tăng quá trình tạo xương ; Một số bệnh khác: Viêm tụy mạn; Lọc máu chu kỳ nhiều năm; Xơ gan; Cường giáp; Nhiễm độc thai nghén

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Yếu tố | Hậu quả | Xử trí |
|--|--|--|
| - Garo quá chặt, quá lâu - Mẫu vỡ hồng cầu | do magie là cation chủ yếu trong tế bào, nên vỡ hồng cầu có thể ảnh hưởng làm tăng trị số Mg | Khi lấy máu garô vừa phải. Nếu dùng bơm tiêm lấy máu phải tháo kim tiêm trước khi bơm máu vào ống nghiệm |
| Đang dùng một số thuốc: Amilorid, nhóm aminoglycosid, aspirin, calcitrol, thuốc nhuận tràng, Salicylat, tacrolimus | có thể ảnh hưởng làm tăng trị số Mg | Ngừng các thuốc 3 ngày trước khi lấy máu |
| Đang dùng một số thuốc Amphetericin, azathioprin, canxi gluconat, cisplatin, cyclosporin, digoxin, insulin, neomycin theophyllin, thuốc tránh thai | có thể ảnh hưởng làm giảm trị số Mg | Ngừng các thuốc 3 ngày trước khi lấy máu |

119. ĐỊNH LƯỢNG N-MID OSTEOCALCIN

Osteocalcin là một protein không thuộc loại collagen, quan trọng nhất trong cấu trúc xương, là protein gắn kết calci chuyên biệt cho xương phụ thuộc vào vitamin K. Nó bao gồm 49 acid amin và có trọng lượng phân tử khoảng 5800 dalton. Trong quá trình tổng hợp xương, osteocalcin được tạo ra bởi các nguyên bào xương. Quá trình này phụ thuộc vitamin K và được thúc đẩy bởi vitamin D3. Sau khi giải phóng từ nguyên bào xương, osteocalcin không chỉ được hấp thu vào trong nền xương mà còn đổ vào hệ tuần hoàn. Như vậy, nồng độ osteocalcin huyết thanh (huyết tương) có liên quan đến tỷ lệ luân chuyển xương ở nhiều rối loạn về chuyển hóa xương, ví dụ đặc biệt là loãng xương, mà còn trong chứng cường tuyến cận giáp nguyên phát và thứ phát hoặc bệnh Paget. Chính vì thế, Osteocalcin được xem như là một dấu ấn cho sự luân chuyển xương và được sử dụng cho mục đích này. Xét nghiệm osteocalcin có thể giúp theo dõi điều trị với các thuốc chống hủy xương (nhóm biphosphonate hoặc liệu pháp thay thế nội tiết tố, như ở các người bệnh bị loãng xương hay tăng calci máu). Có hai dạng osteocalcin dạng nguyên vẹn (acid amin 1-49) và dạng phân đoạn N-MID (acid amin 1-43) đều hiện diện trong máu. Dạng osteocalcin nguyên vẹn không bền do bị protease phân cắt giữa hai acid amin vị trí 43 và 44. Phân đoạn N-MID được tạo thành từ sự phân cắt này bền hơn đáng kể. Xét nghiệm Elecsys N-MID Osteocalcin sử dụng hai kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng trực tiếp các epitope trên phân đoạn N-MID và phân đoạn có đầu N tận cùng. Vì thế xét nghiệm này phát hiện được phân mảnh N-MID bền cũng như osteocalcin nguyên vẹn (nếu còn tồn tại).

I. NGUYÊN LÝ

Osteocalcin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Osteocalcin có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng Osteocalcin đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng Osteocalcin đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ Osteocalcin có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Osteocalcin, chất chuẩn Osteocalcin, chất kiểm tra chất lượng Osteocalcin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin, K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 15-25°C, 3 ngày ở 2-8°C, 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Osteocalcin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Osteocalcin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Osteocalcin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường:

Nữ:

+ Tiền mãn kinh : 11 - 43 ng/mL

+ Mãn kinh: 15 - 46 ng/mL

+ Người bệnh loãng xương: 13 - 48 ng/mL

Nam:

+ 18 – 30: 24 – 70 ng/mL

+ 30 – 50: 14 – 42 ng/mL

+ 50 - 70: 14 – 46 ng/mL

Ở người bệnh suy thận Osteocalcin có thể tăng do hai lý do: giảm thanh thải và loạn dưỡng xương. Xét nghiệm nhằm theo dõi tác dụng của thuốc chống hủy xương.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL .

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ RF < 2200 IU/mL

+ Biotin < 50 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ Osteocalcin tới 4200 ng/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).

120. ĐỊNH LƯỢNG NSE(Neuron-specific enolase)

I. NGUYÊN LÝ

NSE được chỉ định trong các trường hợp ung thư phổi tế bào nhỏ. Ngoài ra, NSE còn tăng trong các trường hợp u nguyên bào thần kinh, u ác tính tinh hoàn và một vài khối u khác. NSE thay đổi tùy thuộc vào kỹ thuật định lượng. NSE được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. NSE trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng NSE 18E5 từ chuột gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng NSE 84B10 từ chuột được đánh dấu bằng ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ NSE có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8⁰C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: ba mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích 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 người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm loại bỏ tế bào ngay trong vòng 1h trước khi tiến hành kỹ thuật. Chỉ sử dụng huyết thanh. Không được vỡ hồng cầu. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 24giờ, ở - 20⁰C được 3 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm. Để tránh những ảnh hưởng đến kết quả, bệnh phẩm, chuẩn cũng như control phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 3 miền: thấp, bình thường và cao. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: 15,7 – 17,0 ng/mL
- Tăng cao và có giá trị nhất trong ung thư phổi tế bào nhỏ. Ngoài ra còn tăng cao trong một số trường hợp u nguyên bào thần kinh, khối u ác tính ở tinh hoàn, u thần kinh đệm, u màng não, u xơ thần kinh ...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|---|--|---|
| Bệnh phẩm vỡ hồng cầu hoặc không được ly tâm ngay | Kết quả tăng giả tạo | Không phân tích các mẫu vỡ hồng cầu. Ly tâm mẫu tách huyết thanh ngay |
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 1231 $\mu\text{mol/L}$, triglyceride > 22,8 mmol/L và biotin > 409 nmol/L | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm 10% | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ > 100000 ng/mL | Hiệu ứng hook-effect | Pha loãng bệnh phẩm |
| Nồng độ NSE > dải đo (0,05 – 370 ng/mL) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |

121. ĐỊNH LƯỢNG NT - ProBNP

(N-terminal pro B-type natriuretic peptide)

Pre-pro-peptid gồm 134 gốc acid amin khi tách ra thành ProBNP (108 gốc acid amin) và một đoạn peptid tín hiệu (25 gốc acid amin). Khi được giải phóng vào máu, proBNP bị thủy phân tạo thành NT-proBNP (76 gốc acid amin, không có hoạt tính sinh học) và BNP (32 gốc acid amin, có hoạt tính sinh học). Ở người, NT-proBNP và BNP có một lượng lớn trong cơ tim thất trái, cũng có một ít trong mô tim nhĩ cũng như trong cơ tim thất phải.

NT-pro BNP trong máu được sử dụng để sàng lọc, chẩn đoán và theo dõi suy tim cấp: suy tim sung huyết, suy tim mất bù cấp tính. NT-proBNP cũng thường tăng ở người bệnh rối loạn chức năng thất trái không có triệu chứng hoặc có triệu chứng và có liên quan đến động mạch vành, thiếu máu cơ tim cục bộ

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng NT-pro BNP dựa trên nguyên lý miễn dịch kiểu Sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang (ECLIA). Tổng thời gian của phản ứng 18 phút.

- Giai đoạn ủ thứ nhất: Gồm 20 μ L mẫu bệnh phẩm (Huyết tương, huyết thanh) I trở kháng nguyên được kẹp giữa một kháng thể đa dòng đặc hiệu với NT- proBNP đã được gắn với biotin và 1 kháng thể đa dòng đặc hiệu với NT- proBNP đã được gắn với ruthenium để tạo thành phức hợp sandwich.

- Giai đoạn ủ thứ hai: Sau khi bổ sung các vi hạt được bao phủ streptavidin phức hợp được gắn kết vào pha rắn do sự tương tác giữa biotin và streptavidin + Phức hợp phản ứng được đưa vào buồng đo. Tại đây các vi hạt (microparticles) được giữ lại bằng từ tính trên bề mặt điện cực. Những chất thừa được rửa đi bằng procell. Dùng một dòng điện một chiều tác động vào điện cực nhằm kích thích phát quang và cường độ tín hiệu ánh sáng phát ra có thể đo được bằng bộ phận nhân quang.

+ Kết quả được tính toán dựa vào đường cong chuẩn thu được bằng cách chuẩn 2 điểm và đường cong gốc được cung cấp từ nhà sản xuất. Nồng độ chất cần định lượng tỷ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh, miễn dịch và 01 kỹ thuật viên.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: Elecsys 1010, Elecsys 2010, modular analytics e170, cobas e 411, cobas e 601 và một số máy khác.

- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm.
- Pipet các loại, ống sample cup.
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng.
- Giá đựng ống nghiệm

2.3. Hóa chất

- Lọ thứ nhất (M)- nắp màu trong, có Streptavidin-coated microparticles thể tích: 6.5 mL: Streptavidin-coated microparticles 0.72 mg/mL; preservative.
- Lọ thứ hai (R1)- nắp màu ghi, có Anti-NT-proBNP-Ab~biotin thể tích 9 mL: Biotinylated polyclonal anti-NT-proBNP antibody (sheep) 1.5 µg/mL;
- phosphate buffer 40 mmol/L, pH 7.4; preservative.
- Lọ thứ ba (R2) nắp màu đen, có Anti-NT-proBNP-Ab~Ru(bpy) thể tích 9 mL: Polyclonal anti-NT-proBNP antibody (sheep) labeled with ruthenium complex 1.7 µg/mL; phosphate buffer 40 mmol/L, pH 7.4; preservative.
- Procell; Clean cell
- Dung dịch chuẩn
- Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay
- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh về mục đích của xét nghiệm

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Thực hiện trên mẫu máu, có thể dùng: Huyết thanh; Huyết tương: chất chống đông thích hợp là Li-heparin

Độ ổn định của mẫu: Mẫu có thể ổn định 3 ngày/nhiệt độ 20-25°C; 6 ngày/nhiệt độ 2-8°C; 12 tháng/nhiệt độ -20°C

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn theo mẫu nhà sản xuất cung cấp

Phân tích QC: ở cả 3 level. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và máy sẽ tự động phân tích mẫu bệnh phẩm.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo: đơn vị pg/mL, nồng độ NT- proBNP phụ thuộc vào lứa tuổi

| Nhóm tuổi | 18-44 | 45-54 | 55-64 | 65-74 | ≥ 75 |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|
| n | 1323 | 408 | 398 | 102 | 33 |
| mean | 35.6 | 49.3 | 72.6 | 107 | 211 |
| SD | 30.2 | 63.3 | 84.4 | 85.9 | 152 |
| Median | 20.4 | 30.7 | 47.3 | 85.1 | 174 |
| 95th percentile | 97.3 | 121 | 198 | 285 | 526 |
| 97.5th percentile | 115 | 172 | 263 | 349 | 738 |

Khi tăng là biểu hiện của suy tim cấp, suy tim mạn, thiếu máu cơ tim cục bộ

Điểm cắt tối ưu NT-proBNP để chẩn đoán suy tim cấp theo tuổi

| Độ tuổi | Điểm cắt tối ưu | Độ nhạy (%) |
|------------|-----------------|-------------|
| < 50 tuổi | < 450 pg/mL | 97 |
| 50-75 tuổi | < 900 pg/mL | 90 |
| >75 tuổi | < 1800pg/mL | 85 |

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi:

Bilirubin > 599 $\mu\text{mol/L}$ (35 mg/dL)

Hemoglobin > 0,869 mmol/L (1,4 g/dL)

Triglycerid > 45 mmol/L (4000 mg/dL)

Biotin > 123 mmol/L (30 ng/mL)

Yếu tố dạng thấp > 1500 IU/mL

- Xử trí: Khi lấy mẫu và chuẩn bị mẫu tránh vỡ hồng cầu, khi ly tâm thấy mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại và lấy lại mẫu máu.

Người bệnh đang dùng thuốc bitoin cần dùng thuốc tối thiểu 8 giờ trước khi lấy mẫu.

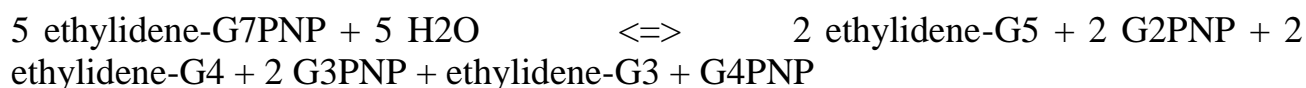
122. ĐO HOẠT ĐỘ P- AMYLASE (Pancreatic α - Amylase)

I. NGUYÊN LÝ

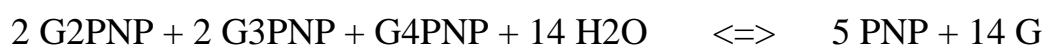
P-Amylase là enzyme thủy phân tinh bột có nguồn gốc tuyến tụy. Xét nghiệm p-amylase thường được chỉ định trong bệnh lý tuyến tụy.

Hoạt độ của enzym Pancreatic α -Amylase (Amylase tụy) trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym.

Pancreatic α -Amylase



α -glucosidase



Trong giai đoạn đầu α Amylase nước bọt bị ức chế, chỉ có α Amylase tụy phát huy tác dụng. Độ đậm màu sắc của PNP hình thành tỷ lệ thuận với hoạt độ α amylase tụy huyết thanh và có thể đo được ở bước sóng 415 nm

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm P-Amylase, chất chuẩn P-Amylase, chất kiểm tra chất lượng P-Amylase.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH₄-heparin hoặc EDTA (nếu dùng EDTA, kết quả thấp hơn 5-

10% so với huyết thanh). Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 1 tháng ở 2–8°C, 7 ngày ở 20°C đến 25°C .

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm P- Amylase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm P- Amylase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm P- Amylase đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 13 - 53 U/L
- P-Amylase máu tăng trong: Bệnh tụy (viêm tụy cấp và mạn).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dL .
- 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 kết quả).

123. ĐỊNH LƯỢNG PAPP-A **(Pregnancy- associated plasma protein A)**

PAPP-A là một đại phân tử glycoprotein có nguồn gốc từ nhau thai, được sản xuất bởi lá nuôi phôi với nồng độ cao trong suốt thai kỳ. Nồng độ PAPP-A có trong huyết thanh mẹ tăng dần theo tuổi thai, rõ rệt nhất ở giai đoạn cuối thai kỳ.

I. NGUYÊN LÝ

Nồng độ PAPP-A được xác định dựa trên phép phân tích miễn dịch hóa phát quang đánh dấu enzym (Enzyme-labeled chemiluminescent immunoassay).

Sau 30 phút ủ, phức hợp Sandwich được tạo thành, trong đó mẫu thử của người bệnh đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa kháng thể kháng PAPP-A gắn với hạt bead và kháng thể kháng PAPP-A liên kết với enzyme ALP. ALP thủy phân cơ chất phát quang tín hiệu. Tín hiệu thu được tỷ lệ thuận với lượng PAPP-A trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: Bác sỹ, cử nhân được đào tạo sử dụng máy Immulite 2000

2. Phương tiện, hóa chất

2.1.1. Phương tiện: Hệ thống máy phân tích Immulite 2000 của hãng SIEMENS

2.1.2. Hóa chất:

- Pha rắn: Hộp chứa hạt bead PAPP-A

+ Chứa 200 hạt bead được phủ kháng thể đơn dòng kháng PAPP-A từ chuột

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Pha lỏng: Hộp chứa thuốc thử PAPP-A

+ Chứa 11,5 mL enzym ALP (từ ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng kháng PAPP-A từ chuột, trong dung dịch đệm.

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Các dung dịch hiệu chuẩn (Adjustor) PAPP-A:

+ 2 lọ chứa PAPP-A (mức thấp và mức cao) trong huyết thanh đông khô không có nguồn gốc từ người. Hoàn nguyên chất đông khô trong mỗi lọ với 2 mL nước cất hoặc nước đã khử ion, đảo trộn nhẹ nhàng để chất đông khô tan hoàn toàn.

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C trong 30 ngày sau khi pha, 3 tháng ở -20°C.

- Các thành phần không được cung cấp kèm theo Kit:

+ Dung dịch pha loãng mẫu: Multi-Diluent 2

- + Cơ chất hóa phát quang (Chemiluminescent Substrate): là một ester phosphate của adamantyl dioxetane, bị thủy phân dưới xúc tác của enzym ALP tạo thành một dạng trung gian không ổn định. Chất trung gian này nhanh chóng bị phá vỡ liên kết để chuyển thành dạng ổn định, đồng thời phát xạ ánh sáng.
- + Dung dịch rửa các kim hút (Probe wash)
- + Dung dịch vệ sinh các kim hút (Probe Cleaning Kit)
- + Tube phản ứng, Tube mẫu
- + Dung dịch kiểm tra chất lượng (Control): 2 mức

* Lưu ý:

- + Chỉ sử dụng để chẩn đoán trong phòng thí nghiệm
- + Thuốc thử được loại bỏ theo quy định
- + Chất bảo quản Natri azide (dưới 0,1 g/dL). Khi xử lý phải dùng một lượng nước lớn để rửa, tránh sự ăn mòn đường ống.
- + Cơ chất hoá phát quang: tránh nhiễm bẩn, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời.
- + Nước: sử dụng nước cất hoặc nước đã khử ion.

3. Người bệnh: Thai phụ tham gia sàng lọc trước sinh ở quý I của thai kỳ (tuần thai từ 11 đến 14 tuần).

4. Phiếu xét nghiệm: theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Bệnh phẩm

- Mẫu phân tích: Huyết thanh hoặc huyết tương có chất chống đông heparin. Không sử dụng huyết tương có chất chống đông EDTA.
- Xử lý mẫu:
 - + Đảm bảo cục máu đông co lại hoàn toàn trước khi ly tâm mẫu để tách huyết thanh, tránh nhiễm kết quả do sự có mặt của fibrin.
 - + Khi sử dụng máu bị vỡ hồng cầu, việc đánh giá kết quả cần thận trọng.
 - + Sử dụng máy siêu ly tâm để làm trong những mẫu có Lipid cao.
- Thể tích mẫu cần thiết: 10 µl huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bảo quản: 24 giờ ở 2 – 8°C, 2 tháng ở -20°C.
- Pha loãng mẫu: pha loãng mẫu trước khi phân tích nếu nghi ngờ mẫu có nồng độ PAPP-A cao hơn ngưỡng đo của máy

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Quy trình phân tích

- Để có kết quả tối ưu, cần tuân thủ các bước của quy trình bảo trì theo sách hướng dẫn IMMULITE 2000. Bao gồm: chuẩn bị, cài đặt, hòa loãng, hiệu chỉnh đường chuẩn (Adjustment), chạy kiểm tra chất lượng và phân tích.
- Chu kỳ hiệu chỉnh lại đường chuẩn (Adjustment) được khuyến cáo là 4 tuần, hoặc khi chạy kiểm tra chất lượng không đạt, hoặc khi thay Lot hóa chất mới.
- Chạy kiểm tra chất lượng ít nhất là 2 mức (thấp và cao)

2.2. Chu kỳ ủ: 1 x 30 phút

2.3. Thời gian có kết quả đầu tiên: 35 phút

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Hiện thị kết quả

- Đơn vị đo: mIU/mL
- Giới hạn đo: 0,025- 10 mIU/mL
- Độ nhạy: 0,025 mIU/mL

2. Giá trị tham khảo

| Tuần thai | Trung vị PAPP-A (mIU/mL) | Tuần thai | Trung PAPP-A (mIU/mL) | vi | Tuần thai | Trung PAPP-A (mIU/mL) | vi |
|------------------|--------------------------|------------------|-----------------------|----|------------------|-----------------------|----|
| 10 ⁺⁴ | 1,33 | 11 ⁺⁵ | 2,35 | | 12 ⁺⁶ | 3,73 | |
| 10 ⁺⁵ | 1,44 | 11 ⁺⁶ | 2,50 | | 13 ⁺⁰ | 3,92 | |
| 10 ⁺⁶ | 1,55 | 12 ⁺⁰ | 2,66 | | 13 ⁺¹ | 4,13 | |
| 11 ⁺⁰ | 1,67 | 12 ⁺¹ | 2,82 | | 13 ⁺² | 4,34 | |
| 11 ⁺¹ | 1,79 | 12 ⁺² | 2,99 | | 13 ⁺³ | 4,55 | |
| 11 ⁺² | 1,92 | 12 ⁺³ | 3,17 | | 13 ⁺⁴ | 4,77 | |
| 11 ⁺³ | 2,06 | 12 ⁺⁴ | 3,35 | | 13 ⁺⁵ | 5,00 | |
| 11 ⁺⁴ | 2,20 | 12 ⁺⁵ | 3,53 | | 13 ⁺⁶ | 5,23 | |

Mỗi Phòng thí nghiệm nên thiết lập một giá trị tham khảo riêng.

3. Đánh giá

- Một số nghiên cứu chỉ ra rằng sự giảm nồng độ PAPP-A trong thai kỳ có liên quan đến những bất thường về nhiễm sắc thể của thai nhi.

- Ở quý I của thai kỳ, sự kết hợp giữa tuổi mẹ, nồng độ β -HCG, PAPP-A trong huyết thanh mẹ và độ mờ da gáy của thai nhi làm tăng hiệu quả của sàng lọc trước sinh so với sàng lọc ở quý II.

V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Hạn chế của phương pháp

- Các kháng thể không đồng nhất trong huyết thanh người có thể phản ứng với các Ig trong thuốc thử gây nhiễu kết quả phân tích
- Những người bệnh thường xuyên tiếp xúc với động vật hoặc các sản phẩm từ huyết thanh động vật cũng có thể gây nhiễu kết quả phân tích
- Sử dụng kết quả phân tích với mục đích chẩn đoán, cần kết hợp với các triệu chứng lâm sàng và tiền sử bệnh của người bệnh.

2. Yếu tố gây nhiễu

- Hiệu ứng High-dose Hook: ≥ 115 mIU/mL
- Các mẫu huyết thanh có nồng độ T-Bilirubin > 200 mg/L (342 μ mol/L), hoặc nồng độ Hb > 157 mg/dL, hoặc nồng độ TG > 3000 mg/dL (33,9 mmol/L) có thể ảnh hưởng đến kết quả. Do đó, không sử dụng các mẫu này để phân tích.

124. ĐỊNH LƯỢNG PEPSINOGEN I

I. NGUYÊN LÝ

Pepsinogen là chất tiền thân không hoạt tính của pepsin (enzym phân giải protein có trong dịch vị), và được phân loại miễn dịch học ra thành Pepsinogen I (PG-I) và Pepsinogen II (PG-II). PG-I được sản xuất ở tuyến đáy vị.

Định lượng Pepsinogen I theo nguyên lý Miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay). Ở bước một: mẫu, dung dịch pha loãng đặc hiệu, và vi hạt thuận từ phủ kháng thể kháng PG- I người được kết hợp lại. PG-I có trong mẫu gắn với các vi hạt phủ anti-human PG-I. Sau khi rửa, ở bước hai: chất kết hợp kháng thể kháng PG -I ở người có đánh dấu acridinium được cho vào. Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng PG-I trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện. Nồng độ của PG-I trong mẫu được xác định bằng cách sử dụng đường cong chuẩn ARCHITECT Pepsinogen I đã thiết lập trước đó.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy Architect

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy Architect ir1000(hoặc hệ máy miễn dịch khác có khả năng định lượng Pepsinogen I)
- Ống nghiệm (EDTA, sodium citrate), ống nghiệm không có chất chống đông, dây garô, bơm tiêm 5ml, cồn sát trùng.

2.2. Hóa chất: Bộ thuốc thử 100 / 500 Test ARCHITECT Pepsinogen I

- Các vi hạt: 1 chai (6,6 mL chai 100 test / 27,0 mL chai 500 test) kháng thể kháng PG-I ở người (từ chuột, đơn dòng) phủ trên Vi hạt trong dung dịch đệm MOPSO với chất ổn định protein (bò). Chất bảo quản: Tác nhân kháng vi sinh vật
- Chất kết hợp: 1 chai (5,9 mL chai 100 test / 26,3 mL chai 500 test) kháng thể kháng PG-I ở người (từ chuột, đơn dòng) phủ trên Vi hạt trong dung dịch đệm MES với chất ổn định protein (bò). Chất bảo quản: ProClin.

- Dung dịch hòa loãng đặt nhiệt: 1 chai (10 mL trên chai 100 test / 50,9 mL trên chai 500 test) dung dịch pha loãng xét nghiệm đặc hiệu Pepsinogen I chứa dung dịch đệm MOPSO. Chất bảo quản: Tác nhân kháng vi sinh vật

3. Người bệnh: những người bệnh nghi ngờ teo niêm mạc tuyến đáy vị dạ dày

4. Phiếu xét nghiệm: Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Bệnh phẩm

1.1. Loại mẫu

Huyết thanh, Huyết tương (potassium EDTA, sodium citrate). Không dùng Các chất chống đông lỏng có thể gây pha loãng dẫn đến làm nồng độ mẫu người bệnh thấp.

1.2. Điều kiện mẫu

- Không sử dụng các mẫu sau: bị bất hoạt do nhiệt, bị tán huyết, thấy nhiễm khuẩn bằng mắt thường, mẫu lấy từ tử thi hay các dịch cơ thể khác.

- Để có kết quả xác thực: mẫu huyết thanh và huyết tương không nên có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả Đối với những mẫu mới đã đông khuyến cáo chuyển mẫu sang ống ly tâm và ly tâm ở ≥ 10.000 RCF (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cup đựng mẫu để chạy xét nghiệm. Các mẫu xét nghiệm đã ly tâm có màng lipid ở trên cùng phải được hút vào cup chứa mẫu. Cần phải cẩn thận chỉ chuyển phần dịch trong không được lẫn lipid.

- Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.

1.3. Bảo quản:

Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 24 giờ, tách huyết tương hay huyết thanh ra khỏi cục máu đông bỏ vào cup có nắp đậy. Mẫu có thể được bảo quản 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C trước khi XN. Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 7 ngày, bảo quản đông lạnh ở $\leq -10^{\circ}\text{C}$.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT Pepsinogen I vào máy Architect.

- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.

- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy lại.

- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng

- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn (Calibrator) và mẫu kiểm tra chất lượng (Control) Pepsinogen I ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.

Yêu cầu chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng Pepsinogen I phải giữ theo chiều thẳng đứng và nhỏ 5 giọt mẫu chuẩn hay 4 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng vào từng cup đựng mẫu tương ứng.

- Nạp mẫu và nhấn nút RUN.

Quy trình pha loãng mẫu

- Mẫu với giá trị Pepsinogen I >200 ng/mL có thể pha loãng theo quy trình pha loãng thủ công với tỷ lệ 1:5 (100 μ L mẫu bệnh phẩm + 400 μ L Pepsinogen I Cal 1). Người vận hành phải nhập hệ số pha loãng vào màn hình đặt lệnh mẫu kiểm tra chất lượng hay bệnh phẩm. Tất cả xét nghiệm chọn để đặt lệnh sẽ được pha loãng. Máy sẽ sử dụng hệ số pha loãng này để tự động tính nồng độ mẫu trước khi pha loãng và báo cáo kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Pepsinogen là chất tiền thân bất hoạt của pepsin là enzym phân giải protein có trong dịch vị, và được phân loại miễn dịch học ra thành Pepsinogen I (PG-I) và Pepsinogen II (PG-II). PG-I được sản xuất ở tuyến đáy vị, PG-II được sản xuất ở tuyến đáy vị, tuyến tâm vị, tuyến môn vị và tuyến Brunner.

1. Bình thường: nồng độ PG- I < 70 ng/mL

2. Giới hạn đo: từ 0 -200 ng/mL.

3. Bệnh lý

Trong quá trình teo niêm mạc tuyến đáy vị, tế bào chính của dạ dày sản xuất PG –I giảm đi nhiều và số tuyến môn vị tăng lên. Vì vậy, tỉ lệ PG- I/PG -II (I / II) được phát hiện khá thấp. Do đó, tỉ lệ I/II hữu ích trong việc xác định teo niêm mạc tuyến đáy vị và tầm soát teo niêm mạc tuyến đáy vị sử dụng kết hợp phân tích tỉ lệ PG I & I / II. Trong trường hợp đặc biệt teo màng lót dạ dày, với bệnh teo niêm mạc tuyến đáy vị thì có liên quan đến ung thư dạ dày. Vì vậy, xét nghiệm miễn dịch PG-I và PG-II được dùng để tầm soát bệnh dạ dày. Tỉ lệ PG-I/II < 3 được xem như là ngưỡng phát hiện trong bệnh teo niêm mạc tuyến đáy vị với tỷ lệ cao nhất.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những mẫu máu sau đây có thể gây ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

- Một số mẫu, đặc biệt là mẫu lấy từ người bệnh dùng thuốc chống đông hay tan huyết khối có thể làm tăng thời gian hình thành cục máu đông. Nếu mẫu được ly tâm

trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả.

- Mẫu máu từ người bệnh có điều trị heparin có thể bị đông máu từng phần và sự xuất hiện của fibrin có thể dẫn đến sai số. Để tránh trường hợp này, nên lấy máu trước khi dùng liệu pháp heparin.

125. ĐỊNH LƯỢNG PEPSINOGEN II

I. NGUYÊN LÝ

Pepsinogen là chất tiền thân bất hoạt của pepsin là enzym phân giải protein có trong dịch vị, và được phân loại miễn dịch học ra thành Pepsinogen I (PG-I) và Pepsinogen II (PG-II). PG-II được sản xuất ở tuyến đáy vị, tuyến tâm vị, tuyến môn vị và tuyến Brunner.

Pepsinogen II là xét nghiệm miễn dịch hai bước để xác định sự hiện diện của PG-II trong huyết thanh và huyết tương người sử dụng phép phân tích Miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm linh hoạt. Ở bước một: mẫu, dung dịch pha loãng đặc hiệu, và vi hạt thuận từ phủ kháng thể kháng PG-II người được kết hợp lại. PG-II có trong mẫu gắn với các vi hạt phủ kháng thể kháng PG-II người. Sau khi rửa, ở bước hai: chất kết hợp kháng thể kháng PG- II ở người có đánh dấu acridinium được cho vào. Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng PG- II trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện. Nồng độ của PG-II trong mẫu được xác định bằng cách sử dụng đường cong chuẩn ARCHITECT Pepsinogen II đã thiết lập trước đó.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy Architect

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy Architect ir1000 (hoặc hệ máy miễn dịch khác có khả năng định lượng Pepsinogen I).
- Ống nghiệm (EDTA, sodium citrate), ống nghiệm không có chất chống đông, dây garô, bơm tiêm 5ml, cùn sát trùng.
- Máy siêu ly tâm

2.2. Hóa chất: Bộ thuốc thử 100 / 500 Test ARCHITECT Pepsinogen II

- Các vi hạt: 1 chai (6,6 mL chai 100 test / 27,0 mL chai 500 test) kháng thể kháng PG-II ở người (từ chuột, đơn dòng) phủ trên Vi hạt trong dung dịch đệm MOPSO với chất ổn định protein (bò). Chất bảo quản: Tác nhân kháng vi sinh vật

- Chất kết hợp: 1 chai (5,9 mL chai 100 test / 26,3 mL chai 500 test) kháng thể kháng PG-II ở người (từ chuột, đơn dòng) phủ trên Vi hạt trong dung dịch đệm MOPSO với chất ổn định protein (bò). Chất bảo quản: ProClin.

- Dung dịch hòa loãng đặt hiệu: 1 chai (10 mL trên chai 100 test / 50,9 mL trên chai 500 test) dung dịch pha loãng xét nghiệm đặc hiệu Pepsinogen II chứa dung dịch đệm MES. Chất bảo quản: ProClin.

3. Người bệnh

Những người bệnh nghi ngờ teo niêm mạc tuyến đáy vị dạ dày

4. Phiếu xét nghiệm: Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Bệnh phẩm

2.1. Loại mẫu:

- Huyết thanh người, Huyết tương (potassium EDTA, sodium citrate). Không dùng Các chất chống đông lỏng có thể gây pha loãng dẫn đến làm nồng độ mẫu người bệnh thấp.

2.2. Điều kiện mẫu:

- Không sử dụng các mẫu sau: bị bất hoạt do nhiệt, bị tán huyết, thấy nhiễm khuẩn bằng mắt thường, mẫu lấy từ tử thi hay các dịch cơ thể khác.

- Để có kết quả xác thực: mẫu huyết thanh và huyết tương không nên có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả. Đối với những mẫu mới đã đông nên chuyển mẫu sang ống ly tâm và ly tâm ở ≥ 10.000 RCF (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cup đựng mẫu để chạy xét nghiệm. Các mẫu xét nghiệm đã ly tâm có màng lipid ở trên cùng phải được hút vào cup chứa mẫu. Cần phải cẩn thận chỉ chuyển phần dịch trong không được lẫn lipid.

- Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.

2.3. Bảo quản:

Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 24 giờ, tách huyết tương hay huyết thanh ra khỏi cục máu đông bỏ vào cup có nắp đậy. Mẫu có thể được bảo quản 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C trước khi XN. Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 7 ngày, bảo quản đông lạnh ở $\leq -10^\circ\text{C}$.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT Pepsinogen II vào máy Architect.
- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.
- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy lại.
- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.
- Chuẩn bị Mẫu chuẩn và Mẫu kiểm tra chất lượng
- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng Pepsinogen II ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.
- Yêu cầu chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng Pepsinogen II phải giữ theo chiều thẳng đứng và nhỏ 5 giọt mẫu chuẩn hay 4 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng vào từng cup đựng mẫu tương ứng.
- Nạp mẫu và nhấn nút RUN.

Quy trình pha loãng mẫu

- Mẫu với giá trị Pepsinogen II > 100 ng/mL có thể pha loãng theo Quy trình pha loãng thủ công với tỷ lệ 1:5 (100 μ L mẫu bệnh phẩm + 400 μ L Pepsinogen II Cal 1). Người vận hành phải nhập hệ số pha loãng vào màn hình đặt lệnh mẫu kiểm tra chất lượng hay bệnh phẩm. Tất cả xét nghiệm chọn để đặt lệnh sẽ được pha loãng. Máy sẽ sử dụng hệ số pha loãng này để tự động tính nồng độ mẫu trước khi pha loãng và báo cáo kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Pepsinogen là chất tiền thân bất hoạt của pepsin là enzym phân giải protein có trong dịch vị, và được phân loại miễn dịch học ra thành Pepsinogen I (PG-I) và Pepsinogen II (PG-II). PG-I được sản xuất ở tuyến đáy vị, PG-II được sản xuất ở tuyến đáy vị, tuyến tâm vị, tuyến môn vị và tuyến Brunner.

1. Giá trị tham khảo: Mỗi phòng xét nghiệm thiết lập giá trị tham khảo riêng.

2. Giới hạn đo: PG II từ 0 -100 ng/mL.

3. Bệnh lý: Trong quá trình teo niêm mạc tuyến đáy vị, tế bào chính của dạ dày sản xuất PG-I giảm đi nhiều và số tuyến môn vị tăng lên. Vì vậy, tỉ lệ PG-I/PG-II (I / II) được phát hiện khá thấp. Do đó, tỉ lệ I/II hữu ích trong việc xác định teo niêm mạc tuyến đáy vị và tầm soát teo niêm mạc tuyến đáy vị sử dụng kết hợp phân tích PG-I và tỉ lệ I / II. Trong trường hợp đặc biệt teo màng lót dạ dày, với bệnh teo niêm mạc tuyến đáy vị thì có liên quan đến ung thư dạ dày. Vì vậy, xét nghiệm miễn dịch PG-I và PG-II được dùng để tầm soát bệnh dạ dày. Tỉ lệ PG-I/II < 3 xem như ngưỡng phát hiện trong bệnh teo niêm mạc tuyến đáy vị với tỷ lệ cao nhất.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Những mẫu máu sau đây có thể gây ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

- Một số mẫu, đặc biệt là mẫu lấy từ người bệnh dùng thuốc chống đông hay tan huyết khối có thể làm tăng thời gian hình thành cục máu đông. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả.
- Mẫu máu từ người bệnh có điều trị heparin có thể bị đông máu từng phần và sự xuất hiện của fibrin có thể dẫn đến sai số. Để tránh trường hợp này, nên lấy máu trước khi dùng liệu pháp heparin.

126. ĐỊNH LƯỢNG PHENOBARBITAL

I. NGUYÊN LÝ

Phenobarbital là thuốc chống co giật thuộc nhóm barbiturat.

Phenobarbital được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Phenobarbital là xét nghiệm một bước để định lượng phenobarbital trong huyết thanh hoặc huyết tương người

Mẫu, anti-phenobarbital phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp phenobarbital có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng. Anti-phenobarbital phủ trên vi hạt thuận từ gắn với phenobarbital có trong mẫu và chất kết hợp phenobarbital có đánh dấu acridinium.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng phenobarbital trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Phenobarbital, chất chuẩn Phenobarbital, chất kiểm tra chất lượng Phenobarbital.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Sodium EDTA (dùng cho ống nhựa). Nếu lấy máu bằng ống thủy tinh, có thể dùng các chất chống đông Li, Na-Heparin và Na,K-EDTA và Potassium Oxalat. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 15 - 30°C, 8 ngày ở 2-8°C, bảo quản 6 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Phenobarbital. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Phenobarbital. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Phenobarbital đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Kết quả được xác định bằng các phương pháp khác nhau sẽ có nồng độ khác nhau. Do vậy không nên dùng các phương pháp khác nhau khi xét nghiệm cho 1 người bệnh.
- Liều điều trị thường có nồng độ ở mức 15 – 40 µg/mL.
- Nồng độ Phenobarbital cao, gây ngộ độc thần kinh trung ương. Người bệnh mắc bệnh thận dễ bị ngộ độc Phenobarbital hơn.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 15 mg/dL .
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2500 mg/dl.
- 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).

127. ĐỊNH LƯỢNG PHENYTOIN

I. NGUYÊN LÝ

Phenytoin thuộc nhóm thuốc chống động kinh.

Phenytoin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Phenytoin là xét nghiệm một bước để định lượng phenytoin trong huyết thanh hoặc huyết tương.

Mẫu, anti-phenytoin phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp phenytoin có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng. Antiphenytoin phủ trên vi hạt thuận từ gắn với phenytoin có trong mẫu và chất kết hợp phenytoin có đánh dấu acridinium.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng phenytoin trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT *i* System phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Phenytoin, chất chuẩn Phenytoin, chất kiểm tra chất lượng Phenytoin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Sodium EDTA (dùng cho ống nhựa). Nếu lấy máu bằng ống thủy tinh, có thể dùng các chất chống đông Li, Na-Heparin và Na, K-EDTA và Potassium Oxalat, Sodium Citrat. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 15 - 25°C, 8 ngày ở 2-8°C, bảo quản 5 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Phenytoin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Phenytoin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Phenytoin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Liều điều trị thường có nồng độ ở mức 10 – 20 µg/mL.
- Nồng độ Phenytoin >20 µg/mL, gây ngộ độc thần kinh trung ương. Người bệnh mắc bệnh thận dễ bị ngộ độc Phenytoin hơn.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 15 mg/dL .
 - + Tán huyết: Hemoglobin <500 mg/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2500 mg/dl.
- 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).

128. ĐỊNH LƯỢNG PHOSPHO

I. NGUYÊN LÝ

Khoảng 88% phốt pho trong cơ thể được phân bố ở trong xương dưới dạng calcium phosphate, phần còn lại tham gia vào quá trình chuyển hóa carbohydrate trung gian và là thành phần của một số chất quan trọng như phospholipid, axit nucleic và ATP... Phốt pho trong máu dưới dạng phosphate vô cơ axit phosphoric. Số lượng nhỏ của phốt pho hữu cơ ngoại bào được tìm thấy duy nhất dưới dạng phospholipid.

Định lượng Phospho theo phương pháp đo điểm cuối với ống trắng thuốc thử. Phosphate trong mẫu bệnh phẩm tác dụng với thuốc thử tạo thành phức hợp phosphomolybdate amoni công thức $(\text{NH}_4)_3[\text{PO}_4(\text{MoO}_3)_{12}]$. Phức hợp màu có thể được xác định mật độ quang ở bước sóng vùng tử ngoại 340 nm, dựa trên mật độ quang của dung dịch chuẩn sẽ tính được nồng độ của phospho.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Trang thiết bị

- Các máy phân tích Hóa sinh bán tự động
- Các máy Hóa sinh tự động: Hitachi 904, 911, 912, 917, cobas 6000, AU 400, 480, 640, 680, 2700, 5800 và một số máy khác.
- Máy ly tâm
- Ống nghiệm
- Pipet các loại
- Đầu côn xanh, vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. Thuốc thử: Tùy theo trang thiết bị hiện có, có hóa chất thích hợp

- Thuốc thử 1: Sulfuric acid: 0.36 mol/L; detergent
- Thuốc thử 2: Ammonium molybdate: 3.5 mmol/L; sulfuric acid: 0.36 mol/L; sodium chloride: 150 mmol/L
- Dung dịch chuẩn
- Dung dịch QC (quality control) ở 2 mức: level 1 và level 2

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay, dây garô
- Bông , cùn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh mục đích của xét nghiệm này

4. Phiếu xét nghiệm

Cần có chỉ định của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm: phân tích trên mẫu máu, nước tiểu

- Máu: huyết thanh, hoặc huyết tương (Lithium heparin, EDTA)
- Nước tiểu: lấy mẫu nước tiểu tốt nhất nên lấy mẫu nước tiểu 24giờ. Mẫu nước tiểu nếu có nhiều cặn phải ly tâm trước khi phân tích.

Tính ổn định của mẫu:

Huyết thanh/huyết tương 24giờ/ nhiệt độ 15 - 25⁰C

4 ngày/ nhiệt độ 2 – 8⁰C

1 năm/ nhiệt độ (-15) đến (-25⁰C)

Máu huyết thanh, huyết tương chỉ được đông lạnh 1 lần

Nước tiểu: 8giờ/ nhiệt độ 15 - 25⁰C. Mẫu nước tiểu 24giờ trong quá trình thu thập mẫu nên bảo quản mẫu ở chỗ thoáng, mát.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

chuẩn máy bằng dung dịch chuẩn (một hoặc nhiều chuẩn =multical)

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

2.2. Phân tích mẫu

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); lựa chọn test và máy sẽ tự động phân tích mẫu bệnh phẩm.

III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số tham khảo:

Huyết thanh/ huyết tương: 0.87–1.45 mmol/L (2.7–4.5 mg/dL)

Mẫu nước tiểu buổi sáng : 12.9–43.9 mmol/L (40–136 mg/dL)

Mẫu nước tiểu 24h: 12.9–42 mmol/24 h (400–1300 mg/24 h)

- Hệ số chuyển đổi mg/dL x 0.323 = mmol/L

mmol/L x 3.10 = mg/dL

+ **Phospho máu tăng trong:** Suy cận giáp trạng; Ưu năng tuyến tiền yên; Thừa Vitamin D khi điều trị còi xương; Suy thận; Nhiễm độc ceton trong ĐTĐ; Ung thư xương tiên triển.

+ **Phospho máu giảm trong:** Cường cận giáp; Thiếu Vitamin D; Hội chứng Fanconi; Thiếu năng tuyến yên; Xơ gan mất bù nặng.

IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi: Bilirubin liên hợp > 599 μ mol/L (35 mg/dL); Hemoglobin >186 μ mol/L (300mg/dL);

- Xử trí :

Mẫu máu: tránh vỡ hồng cầu, nếu huyết tán nhiều nên lấy lại mẫu khác.

Mẫu nước tiểu 24 giờ khi thu thập mẫu cần bảo quản ở chỗ mát. Nếu có nhiều vẩn, cần nên ly tâm trước khi phân tích.

129. ĐỊNH LƯỢNG PRE-ALBUMIN

I. NGUYÊN LÝ

Prealbumin (tên khác là transthyretin) là một protein giàu tryptophan. Thông số này có thể giúp đánh giá mức độ suy dinh dưỡng ở các người bệnh nặng hoặc mắc các bệnh mạn tính và cũng có thể dự báo khả năng hồi phục về tình trạng dinh dưỡng của người bệnh.

Định lượng dựa trên nguyên lý miễn dịch kết hợp kháng nguyên- kháng thể, Phương pháp đo độ đục miễn dịch.

Mẫu bệnh phẩm được cho thêm dung dịch đệm từ thuốc thử 1. Sau đó cho thêm thuốc thử 2 (có kháng thể kháng prealbumin) phản ứng sẽ xảy ra và xuất hiện ngưng kết là sự kết hợp của kháng thể kháng prealbumin và kháng nguyên (chất cần phân tích) có trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Các máy hóa sinh có thể phân tích được: cobas 6000, cobas 800, AU 400, 640, 2700, 5800 và một số máy khác.
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm.
- Pipet các loại, ống sample cup.
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng.
- Giá đựng ống nghiệm.

2.2. Hóa chất

- Thuốc thử 1 (R1) Phosphate buffer: 12.7 mmol/L, pH 7.2; NaCl: 0.13 mol/L; PEG: 60 g/L; chất bảo quản.
- Thuốc thử 2 (R2) Anti-human prealbumin antibody (rabbit): > 0.55 g/L; NaCl: 0.10 mol/L; chất bảo quản.

2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay, dây garo

- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

3. Người bệnh

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

4. Phiếu xét nghiệm

Có phiếu xét nghiệm ghi rõ yêu cầu xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Thực hiện trên mẫu máu: Dùng huyết thanh (không dùng chất chống đông)
- Tính ổn định của mẫu: Mẫu ổn định 3 ngày/ nhiệt độ 2-8°C; 6 tháng/ nhiệt độ (-15) - (-25°C)

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

- Dụng cụ 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

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 người bệnh); chọn test và vận hành theo protocol máy sẽ tự động phân tích.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số tham khảo

3,64 -7,28 $\mu\text{mol/L}$ (20- 40 mg/dL; 0,2 – 0,4 g/L)

Hệ số chuyển đổi:

a. $\text{g/L} \times 18.2 = \mu\text{mol/L}$

c. $\text{mg/dL} \times 0.01 = \text{g/L}$

b. $\text{mg/dL} \times 0.182 = \mu\text{mol/L}$

$\text{g/L} \times 100 = \text{mg/dL}$

2. Trị số prealbumin có thể tăng

- Người mắc bệnh: cường tuyến thượng thận, bệnh Hodgkin
- Người đang dùng thuốc các thuốc: Corticosteroid; Các thuốc kháng viêm non-steroid liều cao; thuốc progesteron hoặc các sản phẩm có chứa progesteron
- Người uống rượu nhiều (Trị số prealbumin sau 7 ngày sẽ trở về trị số ban đầu)

3. Trị số Prealbumin có thể giảm

- Suy dinh dưỡng; chế độ ăn thiếu protein; Rối loạn tiêu hóa mạn tính gây kém hấp thu
- Trong các bệnh: Nhiễm khuẩn nặng, bệnh lý gan, cường giáp
- Nguyên nhân khác: thiếu kẽm; trong trường hợp sau phẫu thuật (Đáp ứng của protein phase cấp âm tính)
- Việc sử dụng các loại thuốc như amiodarone, estrogen và một số thuốc tránh thai có thể gây giảm nồng độ prealbumin

* Nhận định trong chẩn đoán suy dinh dưỡng

Prealbumin <5 mg/dL: dự báo tiên lượng xấu

Prealbumin <11 mg/dL: tích cực bổ sung dinh dưỡng.

Prealbumin <15: bổ sung dinh dưỡng bổ sung dinh dưỡng hai lần một tuần

Theo dõi đáp ứng điều trị:

- Prealbumin tăng lên khoảng 2 mg/dL/ ngày
- Prealbumin trở về bình thường sau khoảng 8 ngày

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả chỉ khi:
 - + Nồng độ bilirubin > 1026 $\mu\text{mol/L}$ (60 mg/dL)
 - + Mẫu bị huyết tán nồng độ Hb > 310 $\mu\text{mol/L}$ (500 mg/dL)
 - + Nồng độ triglycerid > 19,53mmol/L (1730 mg/dL).
 - + Yếu tố dạng thấp (Rheumatoid factor) > 100 IU/mL
 - + Người bệnh uống rượu

- Xử trí

Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu, mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại và yêu cầu lấy mẫu máu khác thay thế.

130. ĐỊNH LƯỢNG PROCALCITONIN

Procalcitonin (PCT) là tiền nội tiết tố có 116 acid amin trọng lượng phân tử 127 kD. PCT được tiết bởi tế bào C tuyến giáp, phổi và tụy. Khi nhiễm trùng nồng độ PCT tăng cao trong máu. Xét nghiệm PCT thường được chỉ định trong các bệnh nhiễm trùng nặng như nhiễm khuẩn huyết, viêm tụy, viêm phổi do thở máy...

I. NGUYÊN LÝ

Procalcitonin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Procalcitonin có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng procalcitonin đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng procalcitonin đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ procalcitonin có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Procalcitonin, chất chuẩn Procalcitonin, chất kiểm tra chất lượng Procalcitonin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin và K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ngày ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: <0,05 ng/mL

- Procalcitonin máu tăng trong: Nhiễm trùng huyết (có giá trị tiên lượng nhiễm trùng huyết), Viêm tụy cấp (có giá trị tiên lượng biến chứng trong VTC), Viêm phổi do thở máy hoặc viêm đường hô hấp mắc phải trong cộng đồng (có giá trị hướng dẫn sử dụng kháng sinh và theo dõi diễn biến bệnh).

- Các trường hợp tăng Procalcitonin không do nhiễm trùng: Soc tim kéo dài hay nghiêm trọng, Ung thư phổi tế bào nhỏ hay ung thư tế bào C của tuyến giáp, Sau chấn thương nặng, can thiệp phẫu thuật nặng, bỏng lớn, Trẻ sơ sinh (48h sau sinh).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL hay 428 μ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin <0.9 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin <30 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ procalcitonin tới 1000 ng/mL

+ 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).

131. ĐỊNH LƯỢNG PROLACTIN

Prolactin là hormone của thùy trước tuyến yên, được tạo thành từ 198 acid amin, có trọng lượng phân tử khoảng 22-23 kD. Tuyến đích của prolactin là tuyến vú. Nó có vai trò trong việc phát triển và biệt hóa tuyến vú. Nồng độ Prolactin cao ức chế hoạt động tổng hợp steroid của buồng trứng, sản xuất và tiết nội tiết tố sinh dục của tuyến yên. Định lượng prolactin được dùng trong chẩn đoán những chu kỳ không rụng trứng, vô kinh do tăng prolactin và tăng tiết sữa, vú to ở nam giới và nghi ngờ có ung thư vú và u tuyến yên.

I. NGUYÊN LÝ

Prolactin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Prolactin trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng Prolactin từ chuột gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng Prolactin từ chuột được đánh dấu bằng ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ Prolactin có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...

- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

Bảo quản ở 2-8⁰C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn

- Control: ba mức

- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

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

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

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết

tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 14 ngày, ở - 20⁰C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm. Để tránh những ảnh hưởng đến kết quả, bệnh phẩm, chuẩn cũng như control phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 3 miền: thấp, bình thường và cao. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: Nam: 4.6 – 21.4 ng/ml
Nữ: 6.0 – 29.9 ng/ml
- Prolactin tăng trong:
 - + Suy sinh dục nam.
 - + Tổn thương vùng dưới đồi.
 - + U tuyến yên, u tiết prolactin lạc chỗ.
- Prolactin máu giảm trong:
 - + Thiếu năng tuyến yên yên.
 - + Sau phẫu thuật cắt tuyến yên

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|---|--|--|
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 513 μmol/L, huyết tán, tăng lipid máu, biotin > 164 nmol/L | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm 15% | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ > 12690 ng/mL | Hiệu ứng hook-effect | Pha loãng bệnh phẩm |
| Nồng độ > dải đo (0,047 – 470 ng/mL) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |

132. ĐIỆN DI PROTEIN

I. NGUYÊN LÝ

Dùng dòng điện 1 chiều để dịch chuyển các tiểu phân tử protein trên môi trường gel dựa trên lực Lorenz. Những phân tử khác nhau sẽ dịch chuyển với tốc độ khác nhau mà ta có thể quan sát được trên điện di đồ.

Tốc độ di chuyển này được quyết định bởi 3 yếu tố: điện tích, kích thước và khối lượng phân tử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy điện di tự động
- Hóa chất

Hóa chất được bảo quản ở 2-8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Huyết thanh

2. Tiến hành kỹ thuật

Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di protein.

Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm điện di protein theo protocol của máy.
- Tiến hành chuẩn điện di protein.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di protein. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo protocol của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường

- Total protein: 64,0 - 83,0 g/L
- Albumin: 35,0 - 50,0 g/L
- Alpha-1 globulin: 1,0 - 3,0 g/L
- Alpha-2 globulin: 6,0 - 10,0 g/L
- Beta globulin: 7,0 - 12,0 g/L
- Gamma globulin: 7,0 - 16,0 g/L

2. Điện di protein thay đổi trong

- Bệnh đa u tủy xương (Kahler): là xét nghiệm chính để chẩn đoán do nó có thể định lượng kháng thể bất thường đặc trưng trong máu. Những biến chứng của bệnh này là: suy thận, thiếu máu, tăng canxi máu.
- Viêm gan cấp, xơ gan: Gamma Globulin tăng; Albumin giảm.
- Hội chứng thận hư đơn thuần: α_2 Globulin, β Globulin máu tăng; γ Globulin máu giảm.
- Lao phổi: α_2 Globulin, γ Globulin tăng

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Mẫu máu phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, không có chứa chất chống đông, bảo quản ở 2-8⁰C.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

133. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN TOÀN PHẦN

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng protein toàn phần để đánh giá tình trạng dinh dưỡng của người bệnh, phát hiện một số bệnh như đa u tủy xương, rối loạn protein, tình trạng nhiễm trùng, bệnh tự miễn, các bệnh lý gây mất protein.

Protein toàn phần trong máu của người bệnh được định lượng theo phương pháp so màu dựa trên nguyên tắc phản ứng Biure. Trong môi trường kiềm, những phân tử có từ 2 liên kết peptid trở lên sẽ tạo phức chất với ion Cu^{++} . Protein trong huyết thanh tác dụng với ion Cu^{++} trong môi trường kiềm tạo phức chất càng của màu xanh tím. Độ đậm của màu tỷ lệ thuận với nồng độ protein trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh của hãng Roche (MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).
- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000 μl , 500 μl , 100 μl , 50 μl và 10 μl .
- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, cùn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.
- Găng tay

Hoá chất

- + Hoá chất làm xét nghiệm Protein.T của hãng ROCHE, OLYMPUS.
- + Chuẩn của Protein
- + Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

2.3. Bệnh phẩm

- + Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông.
- + Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh.
- + Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 1 tháng ở nhiệt độ 2-8⁰C và 6 tháng ở nhiệt độ (-15)-(-25)⁰C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm định lượng protein toàn phần trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Mẫu bệnh phẩm được dán barcode cùng số với tờ phiếu chỉ định xét nghiệm (nơi không có barcode sẽ được đánh số trên ống nghiệm và phiếu chỉ định).
- Mẫu bệnh phẩm được ly tâm, phân phối vào các máy phân tích.
- Phiếu chỉ định được nhập chỉ định bằng hệ thống phần mềm quản lý dữ liệu (nơi không có phần mềm sẽ được quản lý bằng sổ sách).
- Trước khi phân tích, máy phải được thực hiện các bước bảo dưỡng hàng ngày theo quy định của mỗi máy.
- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi giá trong chương trình cài đặt.
- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.
- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm định lượng protein toàn phần được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.
- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.
- Duyệt kết quả: người phân tích có trách nhiệm kiểm soát kết quả trên máy phân tích trước khi in qua hệ thống máy tính hoặc điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu ở nơi không có phần mềm quản lý số liệu

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

4.1. Trị số bình thường: 66 – 87 g/l

4.2. Protein máu toàn phần có thể tăng trong:

- Mất nước (nôn, tả, mất mồ hôi, sốt cao kéo dài).
- Bệnh Đa u tuỷ xương.
- Bệnh Waldstrom.
- Bệnh Sarcoidose.
- Các nhiễm khuẩn mạn tính và các bệnh tự miễn gây tăng gamma globulin máu.

4.3. Protein máu toàn phần có thể giảm trong:

- Hòa loãng máu.
- Giảm khẩu phần protein: Suy dinh dưỡng, nuôi dưỡng bằng dịch truyền tĩnh mạch không có protein.
- Bệnh thận (suy thận, hội chứng thận hư, viêm cầu thận).
- Mất protein qua da (bỏng).
- Mất protein qua đường tiêu hóa: Hội chứng giảm hấp thu, cắt ruột non, rò ruột, bệnh lý của ruột gây mất protein.
- Tăng huỷ protein (đái tháo đường, nhiễm độc tuyến giáp, suy kiệt do ung thư)
- Bệnh gan (viêm gan, xơ gan).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

- Khi thấy kết quả protein toàn phần bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

- + Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường gì không?
- + Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán
- + Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đo cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

+ Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:

- + Máu bị hòa loãng hoặc cô đặc sẽ làm thay đổi nồng độ protein toàn phần.
- + Các thuốc có thể làm thay đổi kết quả xét nghiệm là: Aspirin, corticosteroid, estrogen, penicillin, phenytoin, procainamid, thuốc ngừa thai uống, progestin.
- + Tiêm vaccin gây miễn dịch trong vòng 6 tháng trước có thể gây tăng nồng độ globulin gây tăng nồng độ protein toàn phần trong máu.

134. ĐỊNH LƯỢNG PROGESTERONE

I. NGUYÊN LÝ:

Progesterone là một steroid hormone có trọng lượng phân tử khoảng 314,5 dalton, được hình thành chủ yếu trong các tế bào hoàng thể và trong nhau thai vào thời kỳ mang thai. Nồng độ progesterone tăng cao một ngày trước khi rụng trứng. Progesterone được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Progesterone trong mẫu thử cạnh tranh với Progesterone bắt cặp với một peptid tổng hợp trong thuốc thử đánh dấu bằng chất ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ nghịch với nồng độ progesterone có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: BS hoặc KỸ THUẬT VIÊN được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

Bảo quản ở 2-8⁰C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích.

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: ba mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích 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 người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)

...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 14 ngày, ở 20⁰C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành XN. Để tránh những ảnh hưởng

đến kết quả, bệnh phẩm, chuẩn cũng như control phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ

2. Tiến hành kỹ thuật:

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 3 miền: thấp, bình thường và cao. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường:

- Nữ:

- Pha nang: 0,1 – 1,5 ng/ml.
- Rụng trứng: 0,8 – 3,0 n/ml.
- Thẻ vàng: 1,7 – 2,7 ng/ml.
- Tiền mãn kinh: 0,1 – 0,8 ng/ml.

- Nam: 0,2 – 1,4 ng/ml.

2. Progesteron tăng trong:

- Rụng trứng, có thai.
- U nang buồng trứng...

3. Progesteron máu giảm trong:

- Nhiễm độc thai nghén, dọa xảy thai, thai chết lưu.
- Rối loạn chức năng sinh dục...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|---|---|--|
| Bệnh phẩm lấy và ống sodium citrate | Kết quả thấp hơn so với dùng huyết thanh khoảng 10% | Không dùng loại chất chống đông này |
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 923 $\mu\text{mol/L}$, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng biotin | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |

| | | |
|-------------------------------------|------------------|---------------------|
| Nồng độ > dải đo (0,03-60 ng/mL) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |
|-------------------------------------|------------------|---------------------|

135. ĐỊNH LƯỢNG PROCAINAMIDE

I. NGUYÊN LÝ

Procainamide là thuốc chống loạn nhịp.

Procainamide được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn β galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Procainamide nó tác động lên Procainamide tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Procainamide trong mẫu cạnh tranh với Procainamide liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của β Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Procainamide có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Procainamide không có mặt trong mẫu thử. Procainamide liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ β Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Procainamide trong mẫu thử

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Procainamide, chất chuẩn Procainamide, chất kiểm tra chất lượng Procainamide.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Na, Li-heparin hoặc Na-EDTA . Bệnh phẩm ổn định 1 tuần ở 2–8°C, 1 tháng ở - 20°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Nồng độ Procainamide trong khoảng 4 -10 mg/mL đủ đảm bảo tác dụng điều trị.

- Nồng độ Procainamide >16 mg/mL có thể gây độc.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dL.

+ RF : < 1200 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 kết quả)

136. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN S100

I. NGUYÊN LÝ

S 100 là một protein dimer tương đối nhỏ có trọng lượng phân tử 10,5 kD, có nhiều loại protein S100 khác nhau (khoảng 21 loại). S100 thấy ở một số tế bào như tế bào thần kinh, tế bào sừng... Xét nghiệm S100 thường được chỉ định trong một số bệnh như : Nhồi máu não, U hắc tố, U thần kinh...

Protein S100 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. S100 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng S100 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng S100 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ S100 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm miễn dịch Elecsys 2010, Cobas e411, e170...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm S100, chất chuẩn S100, chất kiểm tra chất lượng S100.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông bởi xét nghiệm này yêu cầu sử dụng bệnh phẩm là huyết thanh. Không sử dụng huyết tương cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Mẫu ổn định trong 8 giờ ở 15-25°C, 2 ngày ở 2-8 °C, 3 tháng ở -20 °C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm S100. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm S100. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm S100 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: 0.046 - 0.105 ug/mL

- Tăng trong: Nhồi máu não, U hắc tố, U thần kinh...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.05g / dL.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin < 50 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF < 2500 IU/mL.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ Ferritin tới 100 000 ng/mL.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng.

137. ĐỊNH LƯỢNG ProGRP (Pro-Gastrin-Releasing-Peptide)

I. NGUYÊN LÝ

GRP (Gastrin-Releasing-Peptide) được sản xuất thường xuyên bởi tế bào ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ (SCLC). Nhưng do GRP rất dễ bị phân hủy, nên xét nghiệm định lượng ProGRP (31-98) trong huyết thanh (ProGRP (31-98) một vùng có tận cùng là carboxyl chung cho 3 loại ProGRP biến thể ở người) là dấu ấn (marker) đáng tin cậy ở người bệnh SCLC.

Xét nghiệm ProGRP là xét nghiệm miễn dịch hai bước sử dụng phép phân tích Miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm linh hoạt để định lượng ProGRP (31-98) trong huyết tương người. Ở bước một: mẫu, dung dịch pha loãng, và kháng ProGRP phủ trên vi hạt thuận từ được kết hợp lại. ProGRP có trong mẫu gắn với các vi hạt phủ kháng ProGRP. Sau khi rửa, chất kết hợp kháng ProGRP có đánh dấu acridinium được cho vào ở bước hai để tạo hỗn hợp phản ứng. Tiếp theo sau là một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng ProGRP trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy Architect

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Máy Architect ir1000, ir 2000
- Ống nghiệm (EDTA, sodium heparin, lithium heparin) dây garô, bơm tiêm 5mL.

2.2. Hóa chất

Bộ Thuốc Thử, 100 Test ARCHITECT ProGRP

- CÁC VI HẠT: 1 chai (6,6 mL) Anti-ProGRP (chuột, kháng thể đơn dòng) phủ trên vi hạt trong dung dịch đệm TRIS với chất ổn định protein (bò). Nồng độ tối thiểu: 0,04% rắn.
- CHẤT KẾT HỢP: 1 chai (5,9 mL) Anti-ProGRP có đánh dấu acridinium (chuột, kháng thể đơn dòng) phủ trên vi hạt trong dung dịch đệm TRIS với chất ổn định protein (bò). Nồng độ tối thiểu: 106 ng/mL.

- DUNG DỊCH HÒA LOÃNG: 1 chai (2,9 mL). Pha loãng xét nghiệm ProGRP chứa dung dịch đệm TRIS.

3. Người bệnh: Là những người bệnh nghi ngờ ung thư phổi, ung thư hạch (carcinoids), ung thư tuyến giáp thể tủy, hay các ung thư ác tính thần kinh nội tiết khác.

4. Phiếu xét nghiệm: Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Khuyến cáo nên sử dụng mẫu huyết tương cho xét nghiệm ARCHITECT ProGRP.
- Huyết tương: Dùng ống EDTA, sodium heparin, lithium heparin
- Các chất chống đông có thể có hiệu ứng pha loãng làm nồng độ mẫu người bệnh thấp.
- Điều kiện mẫu: Không được sử dụng các mẫu sau:
 - + Bị bất hoạt do nhiệt, hỗn hợp, bị tán huyết (> 500 mg/dL), có thể thấy nhiễm khuẩn, mẫu lấy từ tử thi hay các dịch cơ thể khác.
 - + Để có kết quả xác thực: mẫu huyết tương không có hồng cầu hay các vật thể lạ khác.
 - + Thận trọng khi xử lý các mẫu xét nghiệm của người bệnh để ngăn ngừa nhiễm chéo.
 - + Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí bằng que dùng riêng cho phân tích trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.
 - + Mẫu nên được xét nghiệm ngay sau đó để tránh ProGRP bị biến chất trong mẫu. Mẫu ổn định trong 8 giờ ở nhiệt độ từ 15-30°C, 24 giờ ở 2-8°C. Nếu thực hiện xét nghiệm trễ hơn thời gian quy định, cần tách cục máu đông, hồng cầu hay gel phân tách ra huyết tương và bảo quản đông lạnh ($\leq -15^{\circ}\text{C}$) trong 7 ngày, bảo quản ở $\leq -70^{\circ}\text{C}$ (trong 12 tháng), xét nghiệm cho nồng độ ổn định.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT ProGRP vào hệ thống ARCHITECT ir1000 hoặc ir 2000.
- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.
- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy lại.
- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

Xử lý mẫu huyết tương: Mẫu huyết tương không yêu cầu nạp ưu tiên, và không được để trên máy > 3 giờ.

Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng.

- Kiểm tra mẫu chuẩn (Calibrator) và mẫu kiểm tra chất lượng (Control) không đông lạnh trước khi sử dụng. Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng ProGRP ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.

- Yêu cầu chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng ARCHITECT ProGRP phải giữ theo chiều thẳng đứng và nhỏ 7 giọt mẫu chuẩn hay 4 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng vào từng cốc đựng mẫu tương ứng. Sau đó nạp mẫu và nhấn nút RUN

Quy trình pha loãng mẫu

Mẫu với nồng độ ProGRP > 5000 pg/mL sẽ được đánh dấu (flag).

“> 5000” và có thể pha loãng. Máy sẽ thực hiện pha loãng theo tỉ lệ 1:10 cho mẫu theo lệnh của người thực hiện, tự động tính toán nồng độ của mẫu và báo cáo kết quả. Quy trình pha loãng thủ công: Tỷ lệ pha loãng không nên vượt quá 1:10.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm ProGRP được dùng kết hợp với các phương pháp lâm sàng khác để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt ung thư phổi, theo dõi và điều trị người bệnh bị ung thư phổi tế bào nhỏ.

1. Bình thường: Nồng độ ProGRP huyết tương là < 65 pg/mL

2. Giới hạn đo của máy: Nồng độ ProGRP từ 3 - 5000 pg/mL

3. Nồng độ của ProGRP cao trong ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư hạch (carcinoids), ung thư phổi tế bào lớn chưa biệt hóa với thần kinh nội tiết, ung thư tuyến giáp thể tủy, hay các ung thư ác tính thần kinh nội tiết khác (neuroendocrine malignancies).

ProGRP hữu ích trong chẩn đoán phân biệt khối u phổi như ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. ProGRP là chỉ điểm có độ nhạy cao nhất cho ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ (SCLC) so sánh với các bệnh lành tính của phổi. Định lượng nồng độ ProGRP là rất tốt cho việc theo dõi đáp ứng điều trị và phát hiện sự tái phát bệnh ung thư phổi.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những mẫu máu sau đây có thể cho ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

Với mẫu huyết thanh, nồng độ ProGRP có thể bị biến chất do enzym phân giải protein nội sinh (endogenous proteases) được tạo ra trong quá trình đông máu. ***ProGRP bền vững trong mẫu huyết tương hơn là huyết thanh, do đó không sử dụng mẫu huyết thanh để đo ProGRP.***

- Mẫu có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác hay mẫu đã được bảo quản đông lạnh và rã đông cần phải chuyển qua ống ly tâm và ly tâm ít nhất ở ≥ 10000 RCF (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cúp đựng mẫu để chạy xét nghiệm.

- Các mẫu xét nghiệm đã ly tâm có màng lipid ở trên cùng phải được hút vào cup chứa mẫu . Cần phải cẩn thận chỉ chuyển phần dịch trong không được lẫn lipid.

138. ĐỊNH LƯỢNG PSA TỰ DO (fPSA – free prostate specific antigen)

PSA là một glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 30.000 dalton. PSA được tiết bởi các tế bào biểu mô của tuyến tiền liệt. Phần lớn PSA trong máu gắn với các protein huyết tương, lượng nhỏ PSA không gắn với protein được gọi là PSA tự do (free PSA- fPSA). Xét nghiệm fPSA thường được chỉ định trong ung thư tiền liệt tuyến, khi đó sẽ tính tỷ lệ phần trăm của fPSA/tPSA để tiên lượng bệnh ác tính hay không.

I. NGUYÊN LÝ

PSA tự do được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. PSA tự do có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PSA đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PSA đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ PSA có trong mẫu thử.

Để định lượng PSA tự do, đệm phosphat pH=7.4 và một loại kháng thể kháng PSA được sử dụng. Khác với định lượng PSA toàn phần, sử dụng hai loại kháng thể kháng PSA và đệm phosphat pH=6.0.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm PSA, chất chuẩn PSA, chất kiểm tra chất lượng PSA.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin và K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 5 ngày ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm PSA tự do. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm PSA tự do. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm PSA tự do đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường fPSA/tPSA > 25%

Tỷ số này giảm thấp trong trường hợp nghi ngờ bệnh ác tính.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL hay 1112 μmol/L.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 1.0 g/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
 - + Biotin < 30 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
 - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ fPSA tới 15 000 ng/mL.
 - + 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).

139. ĐỊNH LƯỢNG PSA TOÀN PHẦN (TPSA- total prostate specific antigen)

I. NGUYÊN LÝ

PSA là một glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 30.000 dalton. PSA được tiết bởi các tế bào biểu mô của tuyến tiền liệt. Xét nghiệm PSA toàn phần thường được chỉ định trong ung thư tiền liệt tuyến

PSA toàn phần được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. PSA có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PSA đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PSA đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ Ferritin có trong mẫu thử.

Để định lượng PSA toàn phần, đệm phosphat pH=6.0 và hai loại kháng thể kháng PSA được sử dụng. Khác với định lượng PSA tự do, chỉ sử dụng một loại kháng thể kháng PSA và đệm phosphat pH=7.4.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm PSA, chất chuẩn PSA, chất kiểm tra chất lượng PSA.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin và K3-EDTA và Sodium Citrat. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 5 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm PSA. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm PSA. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm PSA đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 4.0 ng/ml
- TPSA máu tăng trong: Ung thư tiền liệt tuyến, Viêm hay phì đại lành tính tiền liệt tuyến.

Lưu ý: việc thăm khám tiền liệt tuyến qua thăm trực tràng cũng có thể làm tăng nồng độ TPSA.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL hay 1112 μ mol/L.
 - + Tán huyết: Hemoglobin <1.4 g/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
 - + Biotin <60 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
 - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ tPSA tới 17 000 ng/mL.
 - + 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).

140. ĐỊNH LƯỢNG PTH (PARATHYROID HORMONE)

I. NGUYÊN LÝ

PTH là hormon của tuyến cận giáp có vai trò trong chuyển hóa canxi (tăng canxi máu). Xét nghiệm PTH thường được chỉ định trong một số bệnh như: Cường cận giáp, Loạn dưỡng xương, Suy cận giáp...

PTH được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. PTH có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PTH đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PTH đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ PTH có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm PTH, chất chuẩn PTH, chất kiểm tra chất lượng PTH.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8h ở 15-25°C, 3 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 1.6 - 6.9 pmol/l

- PTH máu tăng trong: Cường cận giáp, Loạn dưỡng xương, Có thai, loạn sản sinh dục nữ.

- PTH máu giảm trong: Suy cận giáp, Tăng Ca máu không do tuyến cận giáp.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng nhầm chất chống đông (Xét nghiệm yêu cầu sử dụng chất chống đông EDTA). Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL hay 1112 μ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin <1.1 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin <50 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ PTH tới 17000 pg/mL hay 1802 pmol/L

+ 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).

141. ĐỊNH LƯỢNG ACTIVE RENIN

Renin là một enzym có trọng lượng phân tử 37 kDa. Renin được sản xuất dưới dạng prorenin, một tiền chất không hoạt động bởi tế bào cạnh cầu thận gồm 386 axit amin. Renin thuộc hệ thống Renin-Angiotensin-Aldosterone (RAAS) kiểm soát huyết áp, dòng máu thận, sự lọc cầu thận, và thăng bằng nội môi natri / kali. Renin huyết tương là một chỉ số tốt cho hoạt động của RAAS.

I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng active renin trong huyết tương người

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên - kháng thể, theo phương pháp sandwich: Các giếng được phủ bởi kháng thể đơn dòng (chuột) đặc hiệu cho kháng nguyên của phân tử active renin người. Mẫu người bệnh chứa renin được cho vào các giếng, rồi ủ cùng với dung dịch đệm. Sau khi ủ, những thành phần không kết hợp được rửa đi. Cuối cùng, enzym liên hợp là kháng thể kháng renin đơn dòng kết hợp với HRP (horseradish peroxidase) được thêm vào, rồi ủ, sau đó các enzym liên hợp không kết hợp sẽ được rửa sạch. Lượng peroxidase kết hợp thì tỉ lệ với nồng độ renin trong mẫu. Sau khi cơ chất thêm vào, cường độ màu tăng lên và tỉ lệ với nồng độ active renin trong mẫu người bệnh, được đo ở bước sóng 450 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp bởi hãng DRG của Đức (EIA-5125)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Enzyme liên hợp
- + Chuẩn (dạng đông khô)
- + Cơ chất
- + Control cao và thấp (dạng đông khô)
- + Dung dịch rửa
- + Dung dịch đệm
- + Dung dịch ngừng phản ứng
- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp

- + Pipet chính xác
- + Các cốc có nắp đậy
- + Đầu côn pipet dùng một lần
- + Máy lắc tốc độ 700 vòng/phút
- + Control 2 mức thấp và cao

3. Người bệnh

Lưu ý: việc thu thập mẫu người bệnh phải được kiểm soát cẩn thận, vì một số yếu tố sinh lý có thể ảnh hưởng đến bài tiết renin.

- + *Tư thế:* người bệnh phải nằm xuống hơn 1 giờ hoặc đứng thẳng hơn 1 giờ.
- + *Các dao động Renin hàng ngày:* nên lấy mẫu từ 7 - 10 giờ sáng, nếu có thể.
- + *Chế độ ăn uống:* phải biết được lượng natri trong chế độ ăn uống (bằng cách đo natri niệu trong 24 giờ).
- + *Thuốc:* mức độ renin hoạt động có thể bị ảnh hưởng bởi thuốc hạ huyết áp (ví dụ như thuốc lợi tiểu, ức chế men chuyển, chẹn beta, giãn mạch).
- + *Phụ nữ có thai:* mức độ renin không hoạt động và hoạt động tăng trong thời kỳ mang thai.
- + *Chu kỳ kinh nguyệt:* tăng mức độ renin hoạt động trong pha 2 của chu kỳ (*lấy mẫu trong pha 1*).
- + *Tuổi:* mức renin hoạt động giảm dần theo tuổi.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định và phải điền đầy đủ thông tin của người bệnh .

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Sử dụng huyết tương chống đông bằng EDTA.
- Ly tâm, tách *cốc có nắp đậy*, mẫu nên được để ở nhiệt độ phòng và không được để ở 2-8°C trước khi xử lý, sự hoạt hóa cryo của protein có thể xảy ra ở nhiệt độ 2-8°C, cho giá trị dương tính giả (Sự hoạt hóa cryo là sự chuyển đổi protein thành renin ở 2-8°C).
- Xử lý mẫu: Nếu mẫu chưa được làm trong 4 giờ đầu thì bảo quản ở - 20°C hoặc thấp hơn.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

2.1.1. Dung dịch rửa:

Hòa 30 ml dung dịch rửa với 1170 ml nước cất để được dung dịch 1200 ml.

Ổn định 2 tuần ở nhiệt độ phòng.

2.1.2. Chuẩn:

- Từ S0- S5 với các nồng độ lần lượt: 0 pg/mL; 4 pg/mL; 16 pg/mL; 32 pg/mL; 64 pg/mL; 128 pg/mL

- Cho 1ml nước cất vào lọ chuẩn (dạng đông khô), để tối thiểu 10 phút, lắc đều trước khi sử dụng.

- Ổn định 2 ngày khi bảo quản ở 2 – 8° C, lâu hơn ở - 20° C

2.1.3. Control:

- Mức thấp: 8,97 – 13,15 pg/mL và mức cao: 51,52 – 76,20 pg/mL

- Cho 1ml nước cất vào lọ Control (dạng đông khô), để tối thiểu 10 phút, lắc đều trước khi sử dụng.

- Ổn định 2 ngày khi bảo quản ở 2 – 8° C, lâu hơn ở - 20° C

2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.

- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng 215 phút

- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

+ Hút 150 µl dung dịch đệm vào tất cả các giếng.

+ Hút 50 µl mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh tiếp vào các giếng.

+ Ủ trên máy lắc tốc độ 700 vòng/phút, trong 90 phút ở nhiệt độ phòng.

+ Rửa các giếng 4 lần với 300 µl dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.

+ Hút 100 µl enzym liên hợp vào mỗi giếng.

+ Ủ trên máy lắc tốc độ 700 vòng/phút, trong 90 phút, ở nhiệt độ phòng.

+ Rửa các giếng 4 lần với 300 µl dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.

+ Hút 100 µl cơ chất vào mỗi giếng.

+ Ủ trên máy lắc 700 vòng/phút trong 15 phút ở nhiệt độ phòng.

+ Hút 100 µl dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng.

+ Tiến hành đo trong 10 phút.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham khảo:

Tư thế đứng thẳng: < 4,00 - 37,52 pg/mL

Tư thế nằm ngửa: < 4,00 - 23,70 pg/mL

- Ý nghĩa lâm sàng: Xét nghiệm active renin sẽ có ý nghĩa lâm sàng để chẩn đoán, điều trị và theo dõi trong những trường hợp sau:

- + Chẩn đoán tăng huyết áp.
- + Phân loại tăng huyết áp.
- + Phát hiện các khối u sản xuất Renin ở thận.
- + Theo dõi điều trị của liệu pháp corticoid.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút).
- Mẫu có kết quả >128 pg/ml thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch đệm.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lấy đúng thời gian, tư thế và những yêu cầu khác như đã nêu ở phần người bệnh.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

142. ĐỊNH LƯỢNG RF (Rheumatoid factors)

I. NGUYÊN LÝ

RF được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng RF trong thuốc thử kết hợp với RF trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ RF có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm RF, chất chuẩn RF, chất kiểm tra chất lượng RF.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-/Na-heparin, Na²-/K²-/K³-EDTA . Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ở 15-25°C, 3 ngày ở 2-8°C, 4 tuần ở (-15)-(-25)°C

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Bình thường: RF < 14 U/mL

+ Tăng trong: Viêm khớp dạng thấp, Hội chứng Sjogren. Nồng độ RF cao liên quan tới mức độ nặng của bệnh.

Ngoài ra RF còn có thể tăng lên trong một số bệnh như: viêm gan mãn tính, xơ gan mật nguyên phát, viêm nội tâm mạc do vi khuẩn, bệnh bạch cầu, viêm da, lupus ban đỏ, nhiễm một số virus ... và ở khoảng 5-10% người khỏe mạnh, đặc biệt là người cao tuổi.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

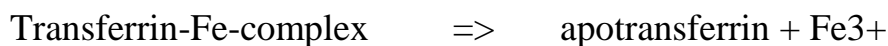
- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.
- Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL hay 621 μ mol/L.
- Huyết thanh đục: Triglycerid < 500 mg/dL.
- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ RF tới 6000 IU/mL.

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).

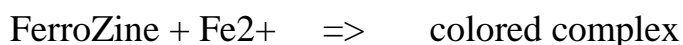
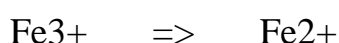
143. ĐỊNH LƯỢNG SẮT

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng Sắt (Fe) trong mẫu máu của người bệnh theo phương pháp đo màu theo phản ứng.



ascorbate



Trong huyết thanh, sắt kết hợp với protein. Trong môi trường acid liên kết Fe-Transferrin bị phá vỡ. Sau đó sắt tạo phức hợp màu với Ferrozine. Độ đậm màu sắc tỷ lệ thuận với nồng độ sắt trong bệnh phẩm, được đo ở bước sóng 570nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Fe, chất chuẩn Fe, chất kiểm tra chất lượng Fe.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin; không được sử dụng chất chống đông EDTA, Oxalat, Citrat. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 7 ngày ở 15 - 25°C, 3 tuần ở 2 -8°C, vài năm ở -15°C đến -25°C .

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số tham khảo: 8.1- 28.6 $\mu\text{mol/l}$.

- Sắt (Fe) máu tăng trong: Tăng sự phá huỷ hồng cầu: sốt đái huyết sắc tố, thiếu máu huỷ huyết, Bệnh gan.

- Sắt (Fe) máu giảm trong: Các thiếu máu thiếu sắt, thiếu máu ác tính, Giảm hấp thu sắt, Nhiễm trùng cấp và mạn tính, Các tân sản, carcinoma, Thận hư, Sau dùng ACTH hoặc các corticoid.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng sai mẫu bệnh phẩm: sử dụng huyết tương chống đông bằng EDTA, Oxalat, Citrat. Khắc phục: Cần huấn luyện cán bộ nắm rõ yêu cầu khi lấy bệnh phẩm và cán bộ nhận bệnh phẩm biết rõ những bệnh phẩm không đạt yêu cầu.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 $\mu\text{mol/L}$.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 80 mg/dL.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1000 mg/dL .

- 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 kết quả).

144. ĐỊNH LƯỢNG SCCA (SQUAMOUS CELL CARCINOMA ANTIGEN)

I. NGUYÊN LÝ

SCCA là một mảnh vỡ của TA-4, một kháng nguyên ung thư được mô tả đầu tiên bởi Kato và Torigoe vào năm 1977. TA-4 là một glycoprotein với trọng lượng phân tử 48.000 Dalton được tiết ra từ các mô ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ tử cung.

Xét nghiệm SCCA (kháng nguyên ung thư biểu mô tế bào vảy) là xét nghiệm miễn dịch hai bước sử dụng phép phân tích Miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm linh hoạt để định lượng kháng nguyên SCC trong huyết thanh và huyết tương người. Ở bước một: Kháng nguyên SCC có trong mẫu thử gắn với kháng thể kháng SCC được phủ lên các vi hạt. Sau khi rửa kháng thể kháng SCC có đánh dấu acridinium được thêm vào ở bước hai. Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan thuận giữa lượng kháng nguyên SCC trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: Bác sĩ và cử nhân xét nghiệm được đào tạo vận hành máy Architect.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy Architect ir1000, ir 2000

- Ống nghiệm có chất chống đông (Potassium EDTA, sodium heparin, sodium EDTA), ống không có chất chống đông

-. Hóa chất

Bộ thuốc thử, 100 test ARCHITECT SCC.

+ **CÁC VI HẠT:** 1 chai (6.6ml) các vi hạt: Kháng thể với các vi hạt phủ kháng nguyên SCC (kháng thể đơn dòng từ chuột) trong đệm MES có chất ổn định protein (bò).

+ **CHẤT KẾT HỢP:** 1 chai (5.9 ml) chất kết hợp: kháng thể được đánh dấu Acridinium với kháng nguyên SCC (chuột, đơn dòng) kết hợp trong đệm MES có chất ổn định protein (bò).

3. Người bệnh: Người bệnh bị ung thư cổ tử cung .

4. Phiếu xét nghiệm: Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện

III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

2.1.1. Loại mẫu:

- Huyết thanh (ống không có chất chống đông), Huyết tương (potassium EDTA, sodium sodium heparin, sodium EDTA).
- Các chất chống đông lỏng có thể gây pha loãng dẫn đến làm nồng độ mẫu người bệnh thấp.

2.1.2. Điều kiện mẫu:

- Không sử dụng các mẫu sau: bị bất hoạt do nhiệt, bị tán huyết (> 500 mg/dL), có thể thấy nhiễm khuẩn, mẫu lấy từ tử thi hay các dịch cơ thể khác.

Để có kết quả xác thực: mẫu huyết thanh và huyết tương không nên có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả. Đối với những mẫu mới đã đông khuyến cáo chuyển mẫu sang ống ly tâm và ly tâm ở ≥ 10.000 RCF (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cup đựng mẫu để chạy xét nghiệm.

- Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.

2.1.3. Bảo quản:

Mẫu để sau 24 giờ nên tách huyết thanh hay huyết tương để bảo quản 7 ngày ở nhiệt độ $2-8^{\circ}\text{C}$. Nếu thực hiện XN sau 7 ngày phải bảo quản đông lạnh $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT SCCA vào máy Architect.
- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.
- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy lại.
- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

Chuẩn bị Mẫu chuẩn và Mẫu chứng.

- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng SCCA ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.
- Yêu cầu về lượng mẫu của mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng ARCHITECT

SCCA, giữ chai theo chiều thẳng đứng và nhỏ 5 giọt cho mỗi mẫu chuẩn hay 4 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng vào từng cốc đựng mẫu tương ứng.

- Khoảng hiệu chuẩn: 0-70 ng/mL. Khi đường cong chuẩn ARCHITECT SCCA được chấp nhận và lưu lại, không cần thực hiện hiệu chuẩn cho tất cả các mẫu xét nghiệm sau đó, trừ khi:

+ Sử dụng lô thuốc thử mới.

+ Mẫu kiểm tra chất lượng cho kết quả nằm ngoài giới hạn.

Nạp mẫu và nhấn nút RUN.

Quy trình pha loãng mẫu: Mẫu với nồng độ SCCA > 70 ng/mL có thể pha loãng bằng tay theo tỉ lệ 1:10 (20 µL mẫu + 180 µL SCCA Calibrators A).

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Ung thư cổ tử cung là một trong những ung thư sinh dục nữ hay gặp nhất trên phạm vi toàn cầu.

Khoảng 80% đến 90% ung thư cổ tử cung là ung thư tế bào vảy. Sự thay đổi nồng độ kháng nguyên ung thư biểu mô tế bào vảy (SCCA) cũng tỷ lệ với tiến trình của bệnh. Do vậy định lượng nồng độ kháng nguyên này rất hữu ích trong việc chẩn đoán, theo dõi điều trị bệnh.

1. Bình thường: Nồng độ SCCA <1,5 ng/mL

2. Giới hạn đo của máy: Từ 0,1ng/mL đến 70 ng/mL

3. Bệnh lý:

- Nồng độ kháng nguyên ung thư biểu mô tế bào vảy (SCCA) tăng trong các khối u ác tính tế bào vảy khác như khối u ở phổi, thực quản, đầu và cổ, ống hậu môn và da.

- Trong ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ tử cung, nồng độ kháng nguyên ung thư biểu mô tế bào vảy (SCCA) huyết thanh tăng gặp ở 45-83% số người bệnh ung thư cổ tử cung biểu mô tế bào vảy và ở 66-84% ung thư cổ tử cung tế bào vảy tái phát. Sự tăng nồng độ SCCA tỷ lệ với mức độ nặng của ung thư cổ tử cung tế bào vảy. Các người bệnh ung thư có nồng độ SCCA tăng trở lại sau phẫu thuật 2-6 tuần có tỷ lệ tái phát 92%. Nồng độ SCCA có liên quan đến sự tái phát khối u và tiên lượng của bệnh.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nếu kết quả nồng độ SCCA không phù hợp với lâm sàng cần làm thêm các xét nghiệm khác để khẳng định kết quả. Muốn có chẩn đoán chính xác cần kết hợp với triệu chứng lâm sàng và các xét nghiệm khác.

- Không nên sử dụng xét nghiệm nồng độ SCCA như một xét nghiệm sàng lọc ung thư.

145. ĐỊNH LƯỢNG SHBG (HUMAN SEX HORMONE-BINDING GLOBULIN)

I. NGUYÊN LÝ

SHBG là globulin gắn với hormon sinh dục như Testosteron và estrradiol, SHBG là glycoprotein có trọng lượng phân tử 95kD. Xét nghiệm thường được chỉ định trong một số bệnh lý có rối loạn hormon sinh dục.

SHBG được định lượng theo nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. SHBG có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng SHBG đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng SHBG đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ SHBG có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm miễn dịch Elecsys 2010, Cobas e411, e170...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm SHBG, chất chuẩn SHBG, chất kiểm tra chất lượng SHBG.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc chất chống đông Li-Heparin. Không sử dụng huyết tương EDTA cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Mẫu ổn định trong 3 ngày ở 2-8 °C, 1 tháng ở -20 °C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường:

+ Nam (17- 65 tuổi) SHBG từ 14.5 - 48.4 nmol/L

+ Nữ (17 - 50 tuổi) SHBG từ 26.1 - 110 nmol/L

+ Nữ mãn kinh từ 14.1 - 68.9 nmol/L

SHBG giảm trong suy giáp, buồng trứng đa nang, béo phì, rậm lông, tăng androgen, rụng tóc, bệnh to cực.

- Tính toán chỉ số FTI (Free Testosteron index)= Testosteron (nmol/L)/SHBG(nmol/L).

+ Nam (17 - 65 tuổi) 33.8 - 106%

+ Nữ (17 - 50 tuổi) 0.51 - 6.53%

+ Nữ mãn kinh từ 0.39 - 1.44%

- Tính toán FTc (Free Testosteron calculated) và BATc (Bioavailable Testosteron) thông qua Testosteron, SHBG và nồng độ Albumin ước tính 4.3 g/dL. Công thức tính toán ở địa chỉ www.issam.ch/freetesto.htm.

Bình thường FTc:

+ Nam (17 - 65 tuổi) 0.254 - 0.637 nmol/L, 1.68 - 2.97%

+ Nữ (17 - 50 tuổi) 0.004 - 0.039 nmol/L, 0.76 - 2.06%

+ Nữ mãn kinh từ 0.002 - 0.037 nmol/L, 1.09 - 2.67%

Bình thường BATc:

+ Nam (17 - 65 tuổi) 4.78 - 14.9 nmol/L, 39.4- 69,5%

+ Nữ (17 - 50 tuổi) 0.08 - 0.93 nmol/L, 17.8 - 48.3%

+ Nữ mãn kinh từ 0.06 - 0.88 nmol/L, 25.5 - 62.7%

V. NHỮNG SAI SỐT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin <2.9 / dL

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2700 mg/dl.

+ Biotin <60 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF <1160 IU/mL

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ SHBG tới 1000 ng/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng.

146. ĐỊNH LƯỢNG SPERM ANTIBODY

(kháng thể kháng tinh trùng)

Kháng thể kháng tinh trùng có thể gây ra vô sinh ở phụ nữ hoặc nam giới. Kháng thể kháng tinh trùng có thể hòa tan trong tinh dịch khi xuất tinh hoặc gắn trên bề mặt của tinh trùng. Ở phụ nữ, kháng thể kháng tinh trùng có thể được tìm thấy trong chất nhầy cổ tử cung, dịch ống dẫn trứng và dịch nang.

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng kháng thể tinh trùng trong tinh dịch người.

I. NGUYÊN LÝ

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên-kháng thể theo phương pháp sandwich: các giếng được phủ bởi protein tinh trùng. Standard, tinh dịch và control được thêm vào, kháng thể tinh trùng trong tinh dịch kết hợp với protein tinh trùng phủ trên giếng, như vậy nó được cố định vào đĩa. Sau khi rửa đi các thành phần không kết hợp không kết hợp, enzym liên hợp được thêm vào. Tiếp sau khi các giếng được rửa lần hai, cơ chất được thêm vào giếng. Tiếp theo, thêm dung dịch ngừng phản ứng thêm vào sẽ chuyển từ màu xanh sang vàng, đậm độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể tinh trùng trong tinh dịch, được đo ở bước sóng 450 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- + Thuốc thử được cung cấp của hãng DRG, Đức (EIA-4249)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Enzyme liên hợp
- + Chuẩn: 4 lọ (0,5 ml/lọ)
- + Cơ chất
- + Control (0,5ml/lọ)
 - + Dung dịch rửa
 - + Dung dịch đậm
 - + Dung dịch ngừng phản ứng
- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
- + Pipet chính xác để hút 5 μ l, 50 μ l, 500 μ l

- + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một lần
- + Nước cất

3. Người bệnh: Không phụ thuộc nhịp sinh học hay yêu cầu gì

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, phải điền đầy đủ thông tin người bệnh.

III. Các bước tiến hành

1. Lấy bệnh phẩm

- Thu thập tinh trùng mới xuất tinh, ly tâm ở nhiệt độ phòng, tách phần nổi lên trên vào tube, đậy kín. Tránh lặp lại bước làm đông và rã đông nhiều lần.

- + Xử lý tất cả các mẫu kỹ, tránh nhiễm bẩn
- + Mẫu có thể được bảo quản với thời gian khác nhau:

Nhiệt độ môi trường lên đến 30 °C: đến ba ngày

Nhiệt độ tủ lạnh (2 °C - 8 °C): đến một tuần

Làm đông (-10 °C đến - 20 °C): đến một năm

- Xử lý mẫu: Hòa loãng tất cả mẫu tinh dịch với dung dịch đệm theo tỉ lệ 1 : 5. Kết quả nhân với hệ số pha loãng.

Ví dụ: hòa loãng 100 μ l tinh dịch với 400 μ l dung dịch đệm

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

2.1.1. Dung dịch rửa:

Hòa 50 ml dung dịch rửa với 450 ml nước cất để được dung dịch 500 ml.

Sau khi pha, ổn định 4 tuần ở 4 °C - 8 °C

2.1.2. Chuẩn: 4 lọ (0,5 ml)

- Nồng độ chuẩn S1 – S4 lần lượt như sau: 31 U/mL; 62 U/mL; 125 U/mL; 250 U/mL. S0 là dung dịch đệm (0 U/mL)

- Sẵn sàng sử dụng

2.1.4. Control: 2 mức

Sẵn sàng sử dụng

2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm khoảng 180 phút
- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

- + Hút 50 μ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu tinh dịch đã xử lý vào các giếng tương ứng.
- + Ủ 60 phút ở 37° C.
- + Rửa sạch các giếng 3 lần với 200 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 50 μ l enzym liên hợp vào từng giếng.
- + Ủ 60 phút ở 37° C.
- + Rửa sạch các giếng 3 lần với 200 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 50 μ l cơ chất vào mỗi giếng.
- + Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng.
- + Hút 50 μ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng.
- + Tiến hành đo trong 10 phút.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham khảo: 0 - 60 U/mL

Giá trị tăng: > 60 U/mL

Trong trường hợp một giá trị trong phạm vi gần cut-off (55 đến 65 U/mL) thì khuyến cáo lấy mẫu sau 2 tuần để làm lại.

- Ý nghĩa lâm sàng: Định lượng kháng thể kháng tinh trùng có giá trị trong chẩn đoán một phần nguyên nhân vô sinh: Đàn ông có hơn 50% tinh trùng có kháng thể kháng tinh trùng cho thấy rõ ràng giảm tỉ lệ khả năng sinh sản.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Tinh dịch phải là mới vừa xuất tinh
- Ở nhiệt độ cao hơn 30° C → mẫu phải được vận chuyển để làm mát hoặc làm đông.
- Mẫu có kết quả vượt quá 250 U/mL thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch S0.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

147. ĐỊNH LƯỢNG T3 (Tri iodothyronine)

I. NGUYÊN LÝ

T3 là hormon tuyến giáp. Xét nghiệm T3 thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp...

T3 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên T3 trong mẫu thử được giải phóng khỏi protein gắn kết trong mẫu bởi ANS.T3 và kháng thể đặc hiệu kháng T3 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho tiếp xúc với nhau.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và T3 đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên kháng thể đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ T3 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ T3 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm T3, chất chuẩn T3, chất kiểm tra chất lượng T3.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm,

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH₄-Heparin và K₃-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm T3. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm T3. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm T3 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

-Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 1.3 - 3.1 nmol/l

- T3 máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp

- T3 máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên. Suy giáp.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 35 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 2.0 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1800 mg/dl.

+ Biotin <20 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 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).

148. ĐỊNH LƯỢNG T4 (Thyroxine)

I. NGUYÊN LÝ

T4 là hormon tuyến giáp. Xét nghiệm T4 thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp...

T4 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên T4 trong mẫu thử được giải phóng khỏi protein gắn kết trong mẫu bởi ANS. T4 và kháng thể đặc hiệu kháng T4 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho tiếp xúc với nhau.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và T4 đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên kháng thể đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ T4 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ T4 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm T4, chất chuẩn T4, chất kiểm tra chất lượng T4.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na-Heparin và K3-EDTA và Sodium Citrat (nếu dùng Sodium Citrat kết quả +10%). Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm T4. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm T4. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm T4 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 66 – 181 nmol/l

- T4 máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp

- T4 máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên, Suy giáp.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 37 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 2.3 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2500 mg/dl.

+ Biotin < 100 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF < 2400 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).

149. ĐỊNH LƯỢNG sTfR

(Soluble transferin receptor - Thụ thể Transferin hòa tan)

I. NGUYÊN LÝ

sTfR (soluble Transferin receptor) là thụ thể của transferin ở dạng hòa tan. sTfR là một protein dimer bao gồm hai tiểu đơn vị giống hệt nhau liên kết với nhau bởi cầu nối disulfide, nó có trọng lượng phân tử 190.000 Dalton. Xét nghiệm này thường được chỉ định trong bệnh thiếu máu do thiếu sắt.

Receptor Transferin ở dạng hòa tan (sTfR) trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp miễn dịch đo độ đục.

Kháng thể kháng sTfR trong thuốc thử kết hợp với sTfR trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ sTfR có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Hitachi 904, 912, MODULAR P...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm sTfR, chất chuẩn sTfR, chất kiểm tra chất lượng sTfR.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin . Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 3 ngày ở 15°C đến 25°C, 4 tuần ở -15°C đến -25°C.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường:

Nam (18 – 60 tuổi): 2.2 - 5.0 mg/L

Nữ (18 – 45 tuổi): 1.9 – 4.4 mg/L

sTfR được xét nghiệm để chẩn đoán và theo dõi thiếu máu do thiếu sắt. Trong trạng thái bệnh lý này nồng độ sTfR trong máu tăng.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi:

+ Huyết thanh vàng : Bilirubin <1026 μ mol/L

+ Huyết thanh đục: Triglycerid < 1000 mg/dL

+ Vỡ hồng cầu: Hb <1000 mg/dL

+ Yếu tố thấp < 750 IU/mL

+ Không có hiệu ứng nồng độ cao khi sTfR < 80 mg/L

- 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).

150. ĐỊNH LƯỢNG TARCROLIMUS

I. NGUYÊN LÝ

Tacrolimus là thuốc ức chế miễn dịch chống thải ghép ở người bệnh ghép tạng

Tacrolimus trong máu toàn phần được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh một bước sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Tacrolimus là xét nghiệm miễn dịch chậm một bước để định lượng tacrolimus trong máu toàn phần: Trước khi thực hiện định lượng trên máy, bước tiền xử lý thủ công được thực hiện với mẫu máu toàn phần được chiết tách với thuốc thử kết tủa và ly tâm. Chất nổi bề mặt được đem đi phân tích trên máy.

Mẫu đã qua tiền xử lý, dung dịch pha loãng thuốc thử và vi hạt thuận từ phủ anti-tacrolimus được kết hợp lại để tạo hỗn hợp phản ứng. Tacrolimus có trong mẫu thử gắn với các vi hạt phủ anti-tacrolimus. Sau khi làm chậm lại, chất kết hợp tacrolimus có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được thêm vào hỗn hợp phản ứng. Chất kết hợp tacrolimus có đánh dấu acridinium cạnh tranh với các điểm chưa kết nối trên vi hạt. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng tacrolimus trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.

+ Hóa chất: Hóa chất tiền xử lý và tách chiết Tacrolimus. Hóa chất xét nghiệm Tacrolimus, chất chuẩn Tacrolimus, chất kiểm tra chất lượng Tacrolimus.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Tùy theo yêu cầu mà có thể lấy máu định lượng Tacrolimus ở những thời điểm khác nhau.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Chỉ sử dụng mẫu máu toàn phần thu thập trong ống EDTA cho xét nghiệm Tacrolimus. Phải ghi rõ thời điểm lấy mẫu và lần cuối sử dụng Tacrolimus lên ống đựng mẫu.
- Các chất chống đông dạng lỏng có thể có làm loãng bệnh phẩm dẫn đến giảm nồng độ Tacrolimus của người bệnh.
- Bệnh phẩm ổn định đến 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C. Nếu xét nghiệm được thực hiện sau hơn 7 ngày cần bảo quản đông lạnh (-10°C hoặc lạnh hơn). Mẫu bệnh phẩm bảo quản đông lạnh có thể lưu giữ trên 90% trong 6 tháng nhưng mất 46% trong 9 tháng. Không bảo quản mẫu đã tiền xử lý.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải trộn kỹ trước khi tiền xử lý.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Tacrolimus. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Tacrolimus đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Xét nghiệm Tacrolimus yêu cầu phải thực hiện bước tiền xử lý bệnh phẩm bằng tay theo quy trình sau:

Bước 1. Lắc đều mẫu (mẫu bệnh phẩm, control, Calibrator) bằng cách nhẹ nhàng lộn các ống 5-10 lần.

Bước 2. Hút chính xác 200 µl mỗi mẫu vào ống ly tâm ngay sau khi lắc mẫu. Dùng mỗi ống cho 1 mẫu.

Ghi chú: Dùng đầu pipette mới cho mẫu mới, không lau đầu tip, không hút quá.

Bước 3: Hút chính xác 200 µl dung dịch Architect Tacrolimus whole blood reagent từ lọ nhỏ có nhãn màu xanh vào mỗi ống ly tâm chứa mẫu. Giọt cuối cùng chạm vào thành ống. Loại bỏ hết bọt khí.

Bước 4: Đậy nắp ống ly tâm và vortex trong khoảng 5-10s. Cần xem lại bằng mắt thường để chắc chắn mẫu và các dung dịch xử lý được trộn đều và đồng nhất.

Bước 5: Đặt các ống vào máy ly tâm, chú ý để cân bằng trong máy ly tâm. Ly tâm ống trong vòng 4 phút, tốc độ 13 000 vòng/phút

Bước 6: Lấy ống ra khỏi máy ly tâm, kiểm tra sự có mặt của các chất lắng dưới đáy và dung dịch trong nội phía trên

Bước 7: Mở nắp ống và gạt chất lỏng phía trên vào ống Transplant pretreatment khi máy Architect đã sẵn sàng để chạy mẫu. Không dùng pipet hút phần dịch nội phía trên để chắc chắn không đựng phần lắng dưới đáy. Lưu ý: Chỉ có ống Transplant Pretreatment (LN 1P06-01) được chấp nhận với mẫu Tacrolimus xử lý để chạy trên hệ

thống Architect iSystem. Các kết quả có thể bị ảnh hưởng nếu không dùng ống Transplant Pretreatment. Vortex ống Transplant pretreatment trong 5-10 giây

Bước 8: Chuyển ống vào khay chứa mẫu của Architect.

Sau khi thực hiện xong bước tiền xử lý, tiếp tục thực hiện như sau

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vừa thực hiện xong bước tiền xử lý vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

Lưu ý: Xét nghiệm Tarcrolimus nếu muốn làm lại phải thực hiện từ bước tiền xử lý. Không sử dụng lại mẫu tiền xử lý đã phân tích xong để chạy lại xét nghiệm.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Không có giá trị bình thường cho xét nghiệm này vì nó phụ thuộc vào từng người bệnh, yêu cầu điều trị cũng như thời gian lấy mẫu.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Nhiều thuốc điều trị có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm Tarcrolimus. Khắc phục: Bác sỹ điều trị cần nắm rõ những cảnh báo về các thuốc điều trị và nồng độ của nó ảnh hưởng thế nào đến kết quả xét nghiệm Tarcrolimus trong khi đánh giá kết quả xét nghiệm.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm ít bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 40 mg/dL .
- + Protein toàn phần: <12g/dL
- + Acid Uric <20 mg/dL
- + Huyết thanh đục: Triglycerid < 800 mg/dl.
- + Hematocrit: <25% hay >55%

151. ĐỊNH LƯỢNG TESTOSTERONE

I. NGUYÊN LÝ

Testosterone có trọng lượng phân tử khoảng 288 dalton, được tổng hợp phần lớn bởi tế bào Leydig của tinh hoàn. Nồng độ testosterone được điều chỉnh bởi hormone LH của tuyến yên và có tác dụng feedback lên tuyến yên và vùng dưới đồi. Nó có vai trò duy trì tính dục nam, duy trì chức năng tuyến tiền liệt và tinh trùng. Ở nữ, một lượng nhỏ testosterone được hình thành ở buồng trứng và không có vai trò đặc biệt. Tăng nồng độ testosterone ở nữ có thể gây ra hiện tượng nam tính. Testosterone được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Testosterone trong mẫu thử đóng cạnh tranh với dẫn xuất testosterone trong thuốc thử đánh dấu bằng chất ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ nghịch với nồng độ testosterone có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8⁰C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: ba mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

3. Người bệnh: được giải thích 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 người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 7 ngày, ở - 20⁰C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm. Để tránh những ảnh

hưởng đến kết quả, bệnh phẩm, chuẩn cũng như control phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 3 miền: thấp, bình thường và cao. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: Nam: 9 - 27.8 nmol/l

Nữ: 0.22 - 2.9 nmol/l

- Testosteron tăng trong:

- + Ưu năng tinh hoàn.
- + Bệnh nam hóa...

- Testosteron máu giảm trong:

- + Thiếu năng tinh hoàn.
- + Thiếu năng vùng dưới đồi yên.
- + Stress

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|--|--|---|
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 513 $\mu\text{mol/L}$, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng biotin. | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại. |
| Người bệnh đang điều trị Nandrolone, người bệnh nữ suy thận giai đoạn cuối. | Sai lệch kết quả | Ngừng dùng thuốc, kết quả chỉ có ý nghĩa tham khảo. |
| Nồng độ > dải đo (0,047 – 470 ng/mL). | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm. |

152. ĐỊNH LƯỢNG TGF- β 1 (Transforming Growth Factor β 1)

TGF- β 1 là một polypeptid chứa 390 axit amin. Yếu tố chuyển đổi tăng trưởng β 1, được sản xuất bởi nhiều tế bào và các loại mô, ví dụ như tiểu cầu, mô xương, nhau thai và thận. Điều chỉnh sự phát triển phôi thai, hình thành xương, phát triển vú, chữa lành vết thương, tạo máu. Đối với hệ thống miễn dịch, TGF- β 1 ức chế tăng sinh tế bào T, tế bào B và như là một phân tử kháng viêm. TGF- β 1 ngăn cản sự hình thành và hoạt hóa đại thực bào, ức chế hoạt động của các tế bào diệt tự nhiên, tế bào diệt kích hoạt lymphokin và sản xuất các cytokin.

I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng TGF- β 1 trong huyết tương, huyết thanh và phân nổi nuôi cấy tế bào.

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên-kháng thể theo phương pháp sandwich: trước khi làm xét nghiệm, standard và mẫu người bệnh được hòa loãng với dung dịch đệm, axit hóa với HCl, rồi trung hòa với NaOH. Sau đó, các mẫu được ủ trong các giếng đã được phủ với kháng thể đa dòng TGF- β 1. Sau khi rửa sạch các thành phần không kết hợp, kháng huyết thanh (kháng thể đơn dòng chuột), rồi Enzym liên hợp (kháng thể IgG chuột liên hợp biotin), phức hợp enzym (Streptavidin Peroxidase) lần lượt được thêm vào rồi được ủ. Một phức hợp sandwich enzym miễn dịch được hình thành. Sau khi rửa đi các thành phần không kết hợp, thêm cơ chất rồi dung dịch ngừng phản ứng vào. Cường độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ total TGF- β 1 trong mẫu, được đo ở bước sóng 450 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng DRG, Đức (EIA-1864)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Enzym liên hợp
- + Chuẩn: 1 lọ
- + Cơ chất
- + Dung dịch đệm
- + Dung dịch rửa

- + HCL 1 N
- + Dung dịch ngừng phản ứng
- + NaOH 1 N
- + Kháng huyết thanh
- + Phức hợp enzym
- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
- + Pipet chính xác
- + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một
- + Nước cất
- + Giấy chỉ thị màu
- + Control mức thấp và cao

3. Người bệnh

- Người bệnh không cần nhịn đói và không có yêu cầu gì đặc biệt khác
- Một số đối tượng mà BS thường chỉ định xét nghiệm này: người bệnh suy thận mạn, suy thận cấp, người bệnh ghép thận...

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

III. Các bước tiến hành

1. Lấy bệnh phẩm

- Thu thập mẫu

Sử dụng huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, citrate hoặc chất nổi trong nuôi cấy tế bào

- + Huyết thanh: để co cục máu, ly tâm ở nhiệt độ phòng
- + Huyết tương: ly tâm ngay sau khi thu thập

Mẫu được tách tube và ổn định ở 2 - 8° C trong 24 giờ, lâu hơn thì làm đông ở -20° C. Lắc đều mẫu sau khi rã đông.

- Xử lý mẫu
- + Huyết thanh và huyết tương

Hòa loãng mẫu với dung dịch đệm theo tỉ lệ 1:50 (ví dụ: 10 μ l mẫu + 490 μ l dung dịch đệm)

+ Mẫu tế bào nuôi cấy

Ly tâm mẫu, hòa loãng mẫu với dung dịch đệm theo tỉ lệ 1:10 (ví dụ: 10 μ l mẫu + 90 μ l dung dịch đệm).

- Axit hóa và trung hòa mẫu và chuẩn:

.+ Thêm 200 μ l chuẩn hoặc mẫu đã hòa loãng vào tube phản ứng.

+ Thêm 20 μ l HCl 1N vào

+ Đậy nắp, trộn đều và để trong 15 phút

+ Thêm 20 μ l NaOH 1N để trung hòa, trộn đều.

+ Sau khi trung hòa, các mẫu nên có giá trị pH từ 7 và 8. Vì vậy hãy kiểm tra giá trị pH với giấy chỉ thị màu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

2.1.1. Dung dịch rửa:

Hòa 30 ml dung dịch rửa với 1170 ml nước cất để được dung dịch 1200 ml.

Sau khi pha, ổn định 2 tuần ở nhiệt độ phòng.

2.1.2. Chuẩn:

- Lọ chuẩn gốc A có nồng độ 600 pg/mL.

- Pha loãng nhiều lần với dung dịch đệm để được chuẩn B,C,D,E,F với các nồng độ tương ứng là 300 pg/mL; 150 pg/mL; 75 pg/mL; 38 pg/mL; 19 pg/mL và G là dung dịch đệm (0 pg/mL).

- Ổn định 1 tuần khi bảo quản ở 2- 8° C, lâu hơn khi làm đông ở -20° C.

2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.

- Tổng thời gian làm xét nghiệm này khoảng 1275 phút (gần 21 giờ) nếu ủ ở 4° C và khoảng 555 phút (gần 9 giờ) nếu ủ ở nhiệt độ phòng.

- Vệ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

+ Hút 100 μ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng.

- + Phủ giấy kín và ủ qua đêm (8 - 16 giờ) ở 4° C. Hoặc ủ 3 giờ ở nhiệt độ phòng.
- + Lấy giấy phủ ra, loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 100 μ l kháng huyết thanh vào mỗi giếng.
- + Ủ 120 phút ở nhiệt độ phòng.
- + Loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 100 μ l enzym liên hợp vào mỗi giếng.
- + Ủ 45 phút ở nhiệt độ phòng.
- + Loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 100 μ l phức hợp enzym vào mỗi giếng.
- + Ủ 45 phút ở nhiệt độ phòng
- + Loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100 μ l cơ chất vào mỗi giếng
- + Ủ 15 phút ở nhiệt độ phòng
- + Hút 50 μ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng, trộn đều.
- + Tiến hành đo với bước sóng 450 nm trong 10 phút.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham khảo: < 25000 pg/mL (25 ng/mL).
- Mỗi phòng thí nghiệm nên xác định các giá trị riêng.
- Ý nghĩa lâm sàng: TGF- β 1 tăng trong ung thư, suy thận mạn, suy thận cấp...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống \rightarrow lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

153. ĐỊNH LƯỢNG TGF- β 2 (Transforming Growth Factor β 2)

TGF- β 2 là một polypeptid chứa 412 axit amin. Yếu tố chuyển đổi tăng trưởng β (TGF- β) được sản xuất bởi nhiều tế bào và các loại mô, ví dụ tiểu cầu, mô xương, nhau thai và thận. Tuy nhiên, TGF- β 2 không được sản xuất bởi các tiểu cầu, trái với TGF- β 1. Nó điều chỉnh sự phát triển phôi thai, hình thành xương, phát triển vú, chữa lành vết thương, tạo máu. TGF- β 2 đã được chứng minh là một yếu tố ức chế sự tăng trưởng mạnh trong điều hòa tế bào thần kinh tiểu não và tăng sinh nguyên bào thần kinh tiểu não sau sinh. TGF- β 2 còn được phát hiện trong dịch nước mắt.

I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng TGF- β 2 trong huyết tương, huyết thanh và phần nổi nuôi cấy tế bào.

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên - kháng thể theo phương pháp sandwich: trước khi làm xét nghiệm, standard và mẫu người bệnh được hòa loãng với dung dịch đệm, axit hóa với HCl, rồi trung hòa với NaOH. Sau đó, các mẫu được ủ trong các giếng đã được phủ với kháng thể đa dòng TGF- β 2. Sau khi rửa sạch các thành phần không kết hợp, Enzym liên hợp (kháng thể IgG chuột liên hợp biotin), phức hợp enzym (Streptavidin Peroxidase) lần lượt được thêm vào rồi được ủ. Một phức hợp sandwich enzym miễn dịch được hình thành. Sau khi rửa đi các thành phần không kết hợp, thêm cơ chất rồi dung dịch ngừng phản ứng vào. Độ đậm màu tỉ lệ thuận với nồng độ TGF- β 2 trong mẫu, được đo ở bước sóng 450 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng DGR, Đức (EIA-2396)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Enzym liên hợp
- + Chuẩn: 1 lọ
- + Cơ chất
- + Dung dịch đệm
- + Dung dịch rửa
- + HCL 1 N

- + Dung dịch ngừng phản ứng
- + NaOH 1 N
- + Phức hợp enzym
- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
- + Pipet chính xác
- + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một lần
- + Nước cất
- + Giấy chỉ thị màu
- + Control 2 mức thấp và cao

3. Người bệnh

Người bệnh không cần nhịn đói và không có yêu cầu gì đặc biệt khác

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

III. Các bước tiến hành

1. Lấy bệnh phẩm

- Thu thập mẫu

Sử dụng huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, citrate hoặc chất nổi trong nuôi cấy tế bào

- + Huyết thanh: để co cục máu, ly tâm ở nhiệt độ phòng
- + Huyết tương: ly tâm ngay sau khi thu thập

Mẫu được tách tube và ổn định ở 2 – 8° C trong 24 giờ, lâu hơn thì làm đông ở -20° C. Mẫu sau khi rã đông nên vortex trước khi làm.

- Xử lý mẫu

- + Huyết thanh và huyết tương

Hòa loãng mẫu với dung dịch đệm theo tỉ lệ 1:50 (ví dụ: 10 μ l mẫu + 490 μ l dung dịch đệm).

- + Mẫu tế bào nuôi cấy

Ly tâm mẫu, hòa loãng mẫu với dung dịch đệm theo tỉ lệ 1:10 (ví dụ: 10 μ l mẫu + 90 μ l dung dịch đệm).

- Axit hóa và trung hòa mẫu và chuẩn:
- + Thêm 200 μl calibrator, control hoặc mẫu đã hòa loãng vào tube phản ứng.
- + Thêm 20 μl HCl 1N vào
- + Đậy nắp, trộn đều và để trong 15 phút
- + Thêm 20 μl NaOH 1N để trung hòa, trộn đều.
- + Sau khi trung hòa, các mẫu nên có giá trị pH từ 7 và 8. Vì vậy hãy kiểm tra giá trị pH với giấy chỉ thị màu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

2.1.1. Dung dịch rửa:

Hòa 30 ml dung dịch rửa với 1170 ml nước cất để được dung dịch 600 ml.

Sau khi pha, ổn định 2 tuần ở nhiệt độ phòng.

2.1.2. Chuẩn:

- Lọ chuẩn gốc A có nồng độ 1000 pg/mL
- Pha loãng nhiều lần với dung dịch đệm để được chuẩn B, C, D, E, F với các nồng độ lần lượt tương ứng là 500 pg/mL; 250 pg/mL; 125 pg/mL; 62,5 pg/mL; 31,25 pg/mL và G là dung dịch đệm (0 pg/mL)
- Ổn định 1 tuần khi bảo quản ở 2 – 8° C, lâu hơn khi làm đông ở - 20° C

2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian làm xét nghiệm này khoảng 355 phút (gần 6 giờ)
- Vệ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

- + Hút 100 μl mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- + Phủ giấy kín và ủ 3 giờ ở nhiệt độ phòng
- + Lấy giấy phủ ra, loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300 μl dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100 μl enzym liên hợp vào mỗi giếng
- + Ủ 120 phút ở nhiệt độ phòng

- + Loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100 μ l phức hợp enzym vào mỗi giếng
- + Ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng
- + Loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300 μ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100 μ l cơ chất vào mỗi giếng
- + Ủ 10 phút ở nhiệt độ phòng
- + Hút 50 μ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng, trộn đều
- + Tiến hành đo với bước sóng 450 nm trong khoảng 10 phút

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Mỗi phòng thí nghiệm nên xác định các giá trị riêng bình thường và bất thường của mình.
- Ý nghĩa lâm sàng: Nồng độ TGF- β 2 tăng trong
 - + Thủy tinh thể của người bệnh có bệnh lý võng mạc đái tháo đường tăng sinh.
 - + Người bệnh có khối u ác tính.
 - + Tăng nhiều trong dịch não thất ở bệnh Parkinson.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống \rightarrow lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

154. ĐỊNH LƯỢNG TG (Thyroglobulin)

I. NGUYÊN LÝ

TG là glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 660kD, bao gồm 2 chuỗi, 1 chuỗi có trọng lượng phân tử khoảng 300 kD và 1 chuỗi 330 kD liên kết với nhau bằng cầu nối disulfide. TG được các tế bào tuyến giáp tổng hợp và có vai trò trong quan trọng trong tổng hợp hormon tuyến giáp. Xét nghiệm TG thường được chỉ định trong Ung thư tuyến giáp một số bệnh về tuyến giáp như: viêm tuyến giáp...

TG được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. TG có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TG đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TG đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ TG có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601,
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm TG, chất chuẩn TG, chất kiểm tra chất lượng TG.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, người bệnh cần được chuẩn bị nhịn ăn ít nhất 10 h trước khi lấy máu, người bệnh tránh căng thẳng mất ngủ trước ngày lấy máu...

3. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là NH₄Li, Na-Heparin và K₃-EDTA, Natri Citrat, Na fluoride, K Oxalate. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 24h ở 15-25 °C, 3 ngày ở 2–8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 1.4 - 78.0 ng/ml

- TG máu tăng trong: Ung thư tuyến giáp, Một số bệnh về tuyến giáp như: viêm tuyến giáp, Basedow.

- TG máu giảm trong: Sự giảm nồng độ TG cũng có giá trị theo dõi hiệu quả của phương pháp điều trị, sự tăng trở lại của TG chứng tỏ có tái phát hoặc có di căn ở người bệnh ung thư giáp.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 36 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.9 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.

+ Biotin < 80 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF < 2500 IU/mL

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” khi nồng độ TG tới 120 000 ng/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).

155. ĐỊNH LƯỢNG THEOPHYLIN

I. NGUYÊN LÝ

Theophyllin là thuốc chống co thắt phế quản dùng điều trị bệnh hen.

Theophyllin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang .

Định lượng Theophylline là xét nghiệm một bước để định lượng theophylline trong huyết thanh hoặc huyết tương người

Bệnh phẩm, anti-theophylline phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp theophylline có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng. Anti-theophylline phủ trên vi hạt thuận từ gắn với theophylline có trong mẫu và theophylline có đánh dấu acridinium.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng theophylline trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Theophyllin, chất chuẩn Theophyllin, chất kiểm tra chất lượng Theophyllin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na-Heparin và K3- EDTA, Sodium Citrat, Sodium Fluorid, Potassium Oxalat. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8 ngày ở 2-8°C, 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Theophylin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Theophylin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Theophylin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Liều điều trị thường ở mức 10 - 20 µg/ mL. Ở trẻ em nồng độ điều trị thường ở mức 5 - 10 µg/mL.
- Với liều trên 20 µg/mL, gây ngộ độc với biểu hiện như: đau đầu, buồn nôn, ỉa chảy. Liều cao hơn gây nôn mửa, xuất huyết dạ dày, rối loạn nhịp tim.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 20 mg/dL .
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.
 - + RF < 500 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).

156. ĐỊNH LƯỢNG TRAb (TSH RECEPTOR ANTIBODIES)

I. NGUYÊN LÝ

TRAb là kháng thể tự miễn kháng receptor của TSH, TRAb rất có giá trị trong chẩn đoán bệnh Basedow, nó có khả năng vận chuyển qua rau thai nên có thể truyền từ máu mẹ vào máu con. Do vậy trẻ có mẹ bị Basedow có thể mắc cường giáp bẩm sinh. xét nghiệm TRAb thường được chỉ định trong một số bệnh như: Basedow, Viêm tuyến giáp Hashimoto...

TRAb được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ điện hóa phát quang.

Đầu tiên: Bệnh phẩm được ủ với dung dịch đệm tiền xử lý (PT1) và thuốc thử tiền xử lý (PT2) chứa dạng tiền phức hợp miễn dịch của thụ thể TSH lợn hòa tan (pTSHR) và kháng thể đơn dòng từ chuột kháng thụ thể TSH lợn đánh dấu biotin. TRAb trong huyết thanh bệnh nhân tương tác với phức hợp thụ thể TSH.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và tự kháng thể đơn dòng kích thích tuyến giáp người (M22) đánh dấu phức hợp ruthenium, TRAb đã gắn kết được phát hiện dựa vào khả năng ức chế gắn kết của M22 đánh dấu. Toàn bộ phức hợp 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 lên bề mặt của điện cực. Những thành phần không gắn kết sẽ bị thải ra ngoài buồng đo bởi dung dịch ProCell. Cho điện áp vào điện cực sẽ tạo nên sự phát quang hóa học được đo bằng bộ khuếch đại quang tử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601...

- Hóa chất: Hóa chất tiền xử lý, Hóa chất xét nghiệm TRAb, chất chuẩn TRAb, chất kiểm tra chất lượng TRAb.

+ Lưu ý định lượng TRAb yêu cầu có thuốc thử tiền xử lý được cung cấp cùng hộp thuốc thử chính và phải được sử dụng như một bộ. Để tránh nhầm lẫn, ngay khi mở hộp thuốc thử cần đánh dấu thuốc thử chính với thuốc thử tiền xử lý bằng cùng ký hiệu để dễ xếp cặp. Chỉ nên đặt một cặp thuốc thử/thuốc thử tiền xử lý trên 1 máy.

Thuốc thử tiền xử lý được pha như sau:

Thêm chính xác 4 ml đệm tiền xử lý (PTB) và thuốc thử tiền xử lý đông khô (PTR).

Lắc nhẹ nhàng cho thuốc thử tan hết và hoàn nguyên trong 60 phút. Sau đó cho dung dịch này vào lọ thuốc thử PT2 (nắp trắng), thận trọng tránh tạo bọt.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông không sử dụng huyết tương cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 3 ngày ở 2°C-8, 1 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm TRAb. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm TRAb. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm TRAb đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Trị số bình thường: <0,92 IU/l

+ TRAb tăng trong các bệnh như Viêm tuyến giáp tự miễn, Basedow

+ Xét nghiệm TRAb được chỉ định trong những trường hợp sau:

- Phát hiện hay loại trừ bệnh cường giáp tự miễn và phân biệt với bệnh tuyến giáp tự phát lan tỏa. Sự hiện diện của TRAb chỉ ra tình trạng nhiễm độc tuyến giáp là do nguyên nhân tự miễn hơn là do bướu hạt độc tuyến giáp. Vì đích điều trị bệnh Basedow có thể khác so với đích điều trị các dạng khác của nhiễm độc giáp nên việc phát hiện TRAb ngay từ đầu có giá trị rõ ràng.

- Theo dõi điều trị bệnh nhân bệnh Basedow và dự đoán tái phát, do đó đây là yếu tố hỗ trợ quan trọng có tính quyết định trong theo dõi điều trị. Nồng độ TRAb có xu hướng giảm khi dùng thuốc kháng giáp điều trị bệnh Basedow. Nồng độ thấp hay không phát hiện TRAb sau một đợt điều trị có thể cho thấy bệnh đã thuyên giảm và do đó có thể cân nhắc việc sử dụng thuốc cho hợp lý.

- Đo nồng độ TRAb trong ba tháng cuối của thai kỳ. Vì TRAb là kháng thể nhóm IgG, chúng có thể qua nhau thai và có thể gây bệnh tuyến giáp sơ sinh. Vì thế đo nồng độ kháng thể TRAb trong thai kỳ ở những bệnh nhân có bệnh sử bệnh tuyến giáp rất quan trọng để đánh giá nguy cơ bệnh tuyến giáp ở trẻ sơ sinh.

V.NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Lấy máu không đúng kỹ thuật gây vỡ hồng cầu. Khắc phục: Huấn luyện cán bộ có kỹ năng lấy máu thuận thực.

- Bệnh phẩm để lâu mới phân tích. Khắc phục: Nên xét nghiệm ngay sau khi bệnh phẩm được gửi đến phòng xét nghiệm.

- Sử dụng huyết tương thay vì sử dụng huyết thanh. Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 0.4 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglycerid < 1500 mg/dl.

+ RF < 600 IU/mL

+ Biotin < 10ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

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).

157. ĐỊNH LƯỢNG TRANSFERIN

I. NGUYÊN LÝ

Transferin là protein vận chuyển sắt của cơ thể. Xét nghiệm Transferin thường được chỉ định trong một số bệnh về máu, bệnh gan...

Transferin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng Transferin trong thuốc thử kết hợp với Transferin trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ Transferin có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Transferin, chất chuẩn Transferin, chất kiểm tra chất lượng Transferin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH₄ Heparin. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8 ngày ở 15-25°C, 6 tháng ở (-15) - (-25)°C
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 200 - 400 mg/dl

- Transferrin máu tăng trong: Viêm gan cấp, Đa hồng cầu, Uống thuốc ngừa thai, có thai.

- Transferrin giảm trong: Thiếu máu tan huyết, Thiếu máu thiếu sắt mạn.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin <1.0g / dL

+ RF <1200 IU/mL

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ Transferin tới 1700 mg/dL

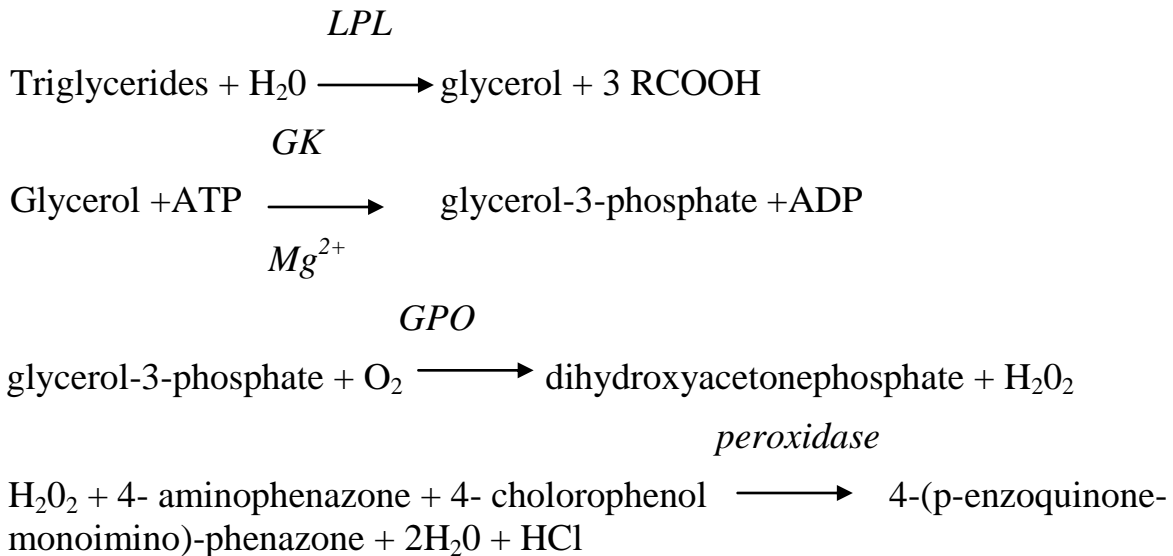
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

158. ĐỊNH LƯỢNG TRIGLYCERID

I. NGUYÊN LÝ

Mục đích của xét nghiệm: Triglycerid thường được định lượng để giúp đánh giá tình trạng cân bằng giữa trọng lượng lipid đưa vào và chuyển hóa lipid trong cơ thể.

Định lượng Triglycerid trong máu của người bệnh theo phương pháp Enzym so màu theo phương trình phản ứng sau:



LPL: Lipoprotein lipase

GK: Glycerol kinase

GPO: Glycerol phosphate oxidase

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh của hãng Roche (MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).

- Máy ly tâm

- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.

- Pipét tự động các loại 1000 μ l, 500 μ l, 100 μ l, 50 μ l và 10 μ l.

- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, côn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.
- Găng tay

2.2 Hoá chất:

- Hoá chất làm xét nghiệm Triglycerid của hãng ROCHE, OLYMPUS.
- Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

2.3. Bệnh phẩm

- Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông
- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh
- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 5- 7 ngày ở nhiệt độ 2-8⁰C và 3 tháng ở nhiệt độ (-15)-(-25)⁰C.

3. Người bệnh: Đã được tư vấn xét nghiệm, chuẩn bị tư tưởng khi khám bệnh, nhịn ăn sáng để lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm: Điền đầy đủ thông tin về người bệnh theo quy định. Phiếu xét nghiệm có chỉ định xét nghiệm định lượng Triglycerid trong máu.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi trong chương trình cài đặt.
- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.
- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm định lượng Triglycerid được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.
- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: 0.46 – 1.88 mmol/l
- Nồng độ Triglycerid máu có thể tăng trong các nguyên nhân chính sau:
 - Tăng huyết áp
 - Đái tháo đường
 - Viêm tụy cấp
 - Xơ gan do rượu
 - Tăng lipoprotein máu có tính chất gia đình.
 - Bệnh thận.
 - Hội chứng thận hư
 - Suy giáp
 - Nhồi máu cơ tim
 - Bệnh gút.
 - Liên quan với chế độ ăn: Tỷ lệ protein thấp, tỷ lệ carbohydrat cao.
 - Bệnh lý kho dự trữ glycogen.
- Nồng độ Triglycerid máu có thể giảm trong các nguyên nhân chính sau:
 - Không có β -lipoprotein huyết bẩm sinh
 - Cường giáp.
 - Suy dinh dưỡng.
 - Do chế độ ăn: Tỷ lệ mỡ thấp.
 - Hội chứng giảm hấp thu.
 - Nhồi máu não
 - Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

- Khi thấy kết quả Triglycerid bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:
 - + Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...
 - + Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường gì không?
 - + Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:
 - + Các chất có thể làm tăng nồng độ triglycerid máu: Rượu, thuốc chẹn beta giao cảm, cholestyramin, corticosteroid, estrogen, thuốc ngừa thai uống, thuốc lợi tiểu thiazid.
 - + Các chất có thể làm giảm nồng độ triglycerid máu: Acid ascorbic, asparaginase, colestipol, clofibrat, dextronthyroxin, metformin, niacin.
 - + Có thai, hoặc người bệnh không nhịn ăn sẽ làm tăng nồng độ triglycerid máu.

159. ĐỊNH LƯỢNG TnT (TROPONIN T)

I. NGUYÊN LÝ

Troponin là đơn vị điều hòa cơ cơ bao gồm ba tiểu phần troponin T (TnT), troponin I (TnI) và troponin C (TnC). Trong đó TnC có cấu trúc tương tự TnC cơ vân nên chỉ TnT và TnI được xem là dấu ấn sinh học tim mạch đặc biệt trong bệnh nhồi máu cơ tim.

TnT được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. TnT có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TnT đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TnT đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ TnT có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm TnT, chất chuẩn TnT, chất kiểm tra chất lượng TnT.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, người bệnh cần được chuẩn bị nhịn ăn ít nhất 10 h trước khi lấy máu, người bệnh tránh căng thẳng mất ngủ trước ngày lấy máu...

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin, EDTA và Na Citrat. Không sử dụng chất chống đông Oxalat và Fluorid cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 24 ngày ở 2–8°C, 12 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: $<0,01$ ng/ml

- Troponin T tăng bệnh lý trong: Nhồi máu cơ tim, Viêm cơ tim, một số trường hợp không liên quan tới bệnh tim như Suy thận...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 29 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin <0.1 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ RF < 1500 IU/mL

+ Biotin <50 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ TnT tới 400 ng/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).

160. ĐỊNH LƯỢNG hsTROPONIN T

(High sensitive troponin T – troponin độ nhạy cao)

I. NGUYÊN LÝ

Troponin là đơn vị điều hòa cơ cơ bao gồm ba tiểu phần troponin T (TnT), troponin I (TnI) và troponin C (TnC). Trong đó TnC có cấu trúc tương tự TnC cơ vân nên chỉ TnT và TnI được xem là dấu ấn sinh học tim mạch đặc biệt trong bệnh nhồi máu cơ tim. hs TnT không phải là một loại TnT khác mà nó là Troponin độ nhạy cao được sử dụng phổ biến trên lâm sàng.

hsTnT được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. TnT có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TnT đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TnT đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ TnT có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm hsTnT, chất chuẩn hsTnT, chất kiểm tra chất lượng hsTnT.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Ngoài trường hợp cấp cứu, người bệnh không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin, EDTA và Na Citrat. Không sử dụng chất chống đông Oxalat và Fluorid cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ở 2-8°C, 12 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm hsTnT. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm hsTnT. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm hsTnT đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

hsTroponinT không phải là một loại Troponin khác mà nó là Troponin độ nhạy cao được sử dụng phổ biến trên lâm sàng. Các lý do để Troponin T trở thành hsTroponinT:

- + Tăng thể tích bệnh phẩm từ 15 µl đến 50 µl.
- + Sử dụng chất liên kết (kháng thể gắn Ru) được tối ưu hóa cao nhằm khuếch đại tín hiệu.
- + Giảm tín hiệu nền để tăng tỉ lệ tín hiệu/nhiều.
- + Giảm nhiễu gây nên bởi kháng thể dị nguyên (heterophic antibodies) bằng cách sử dụng kháng thể chuột-người (chimeric antibodies) thay vì kháng thể chuột đơn thuần (được sử dụng ở Troponin T Gen 4).

Bình thường hs-TnT <14ng/L.

Trong hội chứng vành cấp, căn cứ vào kết quả xét nghiệm TnT sẽ phân tầng nguy cơ như sau:

| | | | | |
|----------------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|--------------|
| <14 ng/L | ≥14 đến 52 ng/L | | ≥53 ng/L | |
| XN hs-TnT lại sau 6h | XN hs-TnT lại sau 3giờ | | XN hs-TnT lại sau 3giờ | |
| <14 ng/L loại trừ NMCT | Biến đổi<50% | Biến đổi>50% | Biến đổi<20% | Biến đổi>20% |
| >14 ng/L theo phác đồ giữa | Tiên lượng xấu. XN lại giờ 6,12 | NMCT | Tiên lượng xấu. XN lại giờ 6,12 | NMCT |

V.NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL.
- + Tán huyết: Hemoglobin <0.1 g/dl.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
- + RF < 1500 IU/mL
- + Biotin <20 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
- + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ TnT tới 100000 ng/L

- 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).

161. ĐỊNH LƯỢNG TnI (TROPONIN I)

I. NGUYÊN LÝ

Troponin là đơn vị điều hòa cơ cơ bao gồm ba tiểu phần troponin T (TnT), troponin I (TnI) và troponin C (TnC). Trong đó TnC có cấu trúc tương tự TnC cơ vân nên chỉ TnT và TnI được xem là dấu ấn sinh học tim mạch đặc biệt trong bệnh nhồi máu cơ tim.

TnI được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. TnI có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TnI đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TnI đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ TnI có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm TnI, chất chuẩn TnI, chất kiểm tra chất lượng TnI.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin, EDTA. Không sử dụng chất chống đông Oxalat và Fluorid cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 giờ ở 20–25°C, 12 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu: <0,16 ng/ml

- Troponin I tăng bệnh lý trong: Nhồi máu cơ tim, Viêm cơ tim, ghép tim...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin <0.4 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ RF < 1500 IU/mL

+ Biotin <30 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ TnI tới 1000 ng/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).

162. ĐỊNH LƯỢNG TSH (THYROID STIMULATING HORMONE)

I. NGUYÊN LÝ

TSH (kích giáp trạng tố) là glycoprotein có trọng lượng phân tử 30 000 daltons bao gồm 2 tiểu đơn vị là chuỗi β và chuỗi α . Chuỗi β mang thông tin sinh học của TSH, còn chuỗi α giống với chuỗi α của LH, FSH và hCG. TSH được tiết ra bởi tế bào ưa kiềm ở thùy trước tuyến yên và cũng có nhịp ngày đêm. Xét nghiệm TSH thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp...

TSH được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. TSH có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TSH đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TSH đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ TSH có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm TSH, chất chuẩn TSH, chất kiểm tra chất lượng TSH.

4. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là NH_4Li , Na-Heparin và K3-EDTA, Natri Citrat, Na fluoride, K Oxalate. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở $2-8^\circ\text{C}$, 1 tháng ở -20°C .

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu: 0.27 - 4.2 μ IU/ml.

- TSH máu tăng trong: Suy tuyến giáp nguyên phát.

- TSH máu giảm trong: Cường tuyến giáp (Basedow), Thiếu năng vùng dưới đồi yên, Điều trị bằng thyroxin.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 41 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin <1.0 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin <60 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF <3250 IU/mL

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” khi nồng độ TSH tới 1000 μ 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).

163. ĐỊNH LƯỢNG TOBRAMYCIN

I. NGUYÊN LÝ

Tobramycin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn β galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Tobramycin nó tác động lên Tobramycin tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Tobramycin trong mẫu thử cạnh tranh với Tobramycin liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của β Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Tobramycin có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Tobramycin không có mặt trong mẫu thử. Tobramycin liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ β Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Tobramycin trong mẫu thử

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Tobramycin, chất chuẩn Tobramycin, chất kiểm tra chất lượng Tobramycin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-heparin hoặc EDTA . Bệnh phẩm ổn định 1 tuần ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Tobramycin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Tobramycin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Tobramycin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Nồng độ Tobramycin trong khoảng 6 -10 $\mu\text{g/mL}$ đủ đảm bảo hoạt tính kháng khuẩn.
- Quá nồng độ trên Tobramycin có thể gây độc cho thận và ảnh hưởng tới thính lực.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 $\mu\text{mol/L}$.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1000 mg/dL.
 - + RF : < 1200 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 kết quả)

164. ĐỊNH LƯỢNG TOTAL P1NP

(Total procollagen type 1 amino-terminal propeptid)

Collagen típ 1 là loại collagen được ưu tiên tổng hợp trong xương, chiếm tỷ lệ hơn 90 % cấu trúc hữu cơ của xương. Collagen típ 1 có nguồn gốc từ procollagen típ 1 được tổng hợp bởi nguyên bào sợi và nguyên bào xương. Procollagen típ 1 có chứa nhóm tận cùng N-(amine) và C-(carboxy). Các nhóm này (propeptide) được loại bỏ nhờ các protease đặc hiệu trong quá trình chuyển hóa procollagen tạo thành collagen để sau đó xâm nhập vào tổ chức xương. Đoạn có nhóm amine tận cùng có tên là P1NP - típ 1 procollagen amino-terminal - propeptide. Do đó P1NP là chỉ số đặc hiệu đối với sự lắng đọng collagen típ 1 và vì vậy nó được xem là dấu ấn thật sự của tạo xương. P1NP được phóng thích trong quá trình tạo collagen típ 1 vào trong khoảng gian bào và cuối cùng vào máu. P1NP dường như được phóng thích dưới dạng cấu trúc tam phân (bắt nguồn từ cấu trúc tam phân của collagen) nhưng nó nhanh chóng bị giáng hóa thành dạng đơn phân do tác dụng thoái hóa bởi nhiệt. Xét nghiệm Elecsys P1NP phát hiện cả hai phân đoạn trong máu và do đó được gọi là P1NP toàn phần.

I. NGUYÊN LÝ

P1NP toàn phần được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. P1NP toàn phần có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng P1NP toàn phần đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng P1NP toàn phần đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ P1NP toàn phần có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm P1NP toàn phần, chất chuẩn P1NP toàn phần, chất kiểm tra chất lượng P1NP toàn phần.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin, K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ở 15- 25°C, 5 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm P1NP toàn phần. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm P1NP toàn phần. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm P1NP toàn phần đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu:

- Tiền mãn kinh : 15.13 – 58.59 ng/mL
- Mãn kinh: 16.27 – 73.87 ng/mL

Định lượng P1NP toàn phần để thăm dò quá trình tạo xương.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL .

- + Tán huyết: Hemoglobin <1.8 g/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.
 - + RF < 2490 IU/mL
 - + Biotin <50 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
 - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ P1NP toàn phần tới 3900 ng/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).

165. ĐỊNH LƯỢNG T-UPTAKE

I. NGUYÊN LÝ

Thyroxine (T4) là hormon có tác động trên chuyển hóa chung. Định lượng T4 quan trọng trong việc chẩn đoán phân biệt giữa bình giáp, cường giáp và nhược giáp. Phần lớn thyroxine gắn với protein vận chuyển (TBG, prealbumin và albumin), do vậy việc xác định thyroxine toàn phần chỉ cung cấp thông tin chính xác khi khả năng gắn kết thyroxine trong huyết thanh là bình thường. Nội tiết tố tuyến giáp tự do trong trạng thái cân bằng với nội tiết tố gắn với protein mang. Một thay đổi trong nồng độ TBG có thể dẫn tới nồng độ T4 toàn phần đo được tăng hoặc giảm mặc dù nồng độ T4 tự do vẫn nằm trong khoảng bình giáp. Xét nghiệm T-uptake (chỉ số gắn kết thyroxine) cung cấp một phép đo cho các vị trí gắn kết thyroxine còn trống.

T-uptake (Chỉ số gắn kết T4) được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng phương pháp miễn dịch hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên: Mẫu bệnh phẩm, T4 ngoại sinh, và T4-polyhapten đánh dấu biotin cho tiếp xúc với nhau. T4 chiếm giữ các vị trí gắn kết tự do trong mẫu huyết thanh.

Sau khi thêm kháng thể đặc hiệu kháng T4 đánh dấu phức hợp ruthenium, polyhapten và dẫn xuất kháng thể phản ứng với nhau tạo thành một phức hợp, nồng độ của phức hợp tỷ lệ nghịch với nồng độ của T4 ngoại sinh dư thừa. Phức hợp miễn dịch này trở nên gắn kết với vi hạt phủ streptavidin thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay.
- Hóa chất: Hóa chất định lượng T-uptake, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng T-uptake.
- Máy móc: Có thể sử dụng các máy như Cobas e411, e170, e601, Architect...

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông là Heparin, K3-EDTA, Natri Citrate, Kali Oxalat, Natri Floride.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hay huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8 ngày ở 2-8°C, 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm ở 4000 vòng trong 5 phút tách lấy huyết thanh.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Sau khi tách được huyết thanh, bệnh phẩm được chuyển đến máy phân tích
- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm T-uptake. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm T-uptake. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm T-uptake đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường T-uptake: 0.8-1.3
- T-uptake <0.8 có thể cường giáp hay nồng độ TBG thấp.
- T-uptake >1.3 có thể suy giáp hay nồng độ TBG cao.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 41 mg/dL .

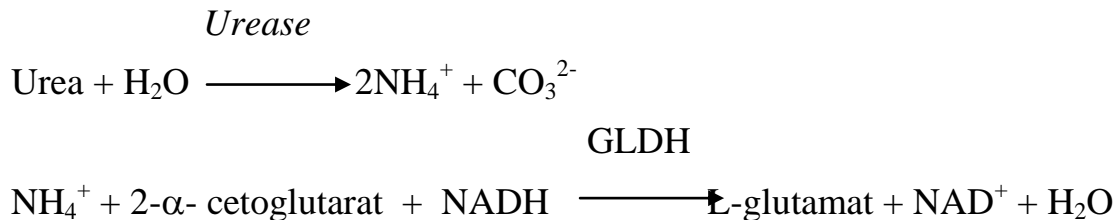
- + Tán huyết: Hemoglobin < 2.0 g/dL
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.
 - + Biotin <40 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
 - + RF <339 IU/mL
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực 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).

166. ĐỊNH LƯỢNG URE

I. NGUYÊN LÝ

Ure là sản phẩm của quá trình chuyển hóa $-\text{NH}_2$ từ chu trình ure ở gan. Ure được đào thải chủ yếu qua thận. Nồng độ ure phụ thuộc nhiều vào chế độ ăn

Ure máu được định lượng theo phương pháp động học:



II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: NaCl 9% ...

R 2: TRIS buffer, NADH, ADP, urease ...

Bảo quản ở 2-8⁰C đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích.

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn, nước muối sinh lý
- Control: 2 mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

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

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

...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA, heparin (không dùng ammonium heparin. Bảo quản ở 2-8⁰C trong vòng 7 ngày, ở -20⁰C được 12 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25⁰C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 2 miền: bình thường và bất thường. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu: 1,7- 8,3 mmol/L
- Ure máu tăng: Suy thận và các bệnh về thận
Sốt, nhiễm trùng
Các bệnh tim mạch
Ăn nhiều protid
- Ure máu giảm: Suy gan nặng, suy dinh dưỡng ...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân | Sai sót | Xử trí |
|--|-------------------------|----------------------------|
| Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng Ammonium heparin | Có thể làm tăng kết quả | Không sử dụng loại ống này |
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin tăng, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc | Kết quả ít bị ảnh hưởng | |
| Nồng độ > dải đo (0,5-40 mmol/L) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |

167. ĐỊNH LƯỢNG VALPROIC ACID

I. NGUYÊN LÝ

Valproic Acid là thuốc hướng thần có tác dụng chống động kinh.

Valproic Acid được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Valproic Acid là xét nghiệm một bước để định lượng valproic acid trong huyết thanh hoặc huyết.

Mẫu bệnh phẩm, anti-valproic acid phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp kháng thể kháng valproic acid có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng.

Anti-valproic acid phủ trên vi hạt thuận từ gắn với valproic acid có trong mẫu thử và chất kết hợp kháng thể kháng valproic acid có đánh dấu acridinium.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng valproic acid trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Valproic Acid, chất chuẩn Valproic Acid, chất kiểm tra chất lượng Valproic Acid.

3. Người bệnh: Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm: Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Sodium EDTA (dùng cho ống nhựa). Nếu lấy máu bằng ống thủy tinh, có thể dùng các chất chống đông Li, Na-Heparin và Na,K-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 15 - 25°C, 8 ngày ở 2-8°C, bảo quản 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Valproic Acid. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Valproic Acid. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Valproic Acid đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Kết quả được xác định bằng các phương pháp khác nhau sẽ có nồng độ gây độc khác nhau. Do vậy không nên dùng các phương pháp khác nhau khi xét nghiệm cho 1 người bệnh.
- Liều điều trị thường có nồng độ ở mức 50 - 100 µg/mL. Tuy nhiên nồng độ này còn phụ thuộc vào từng cá thể.
- Nồng độ Valproic Acid cao gây ngộ độc chủ yếu ở dạ dày và ruột như buồn nôn, nôn và tiêu chảy.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 20 mg/dL .
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 3000 mg/dl.
- 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).

168. ĐỊNH LƯỢNG VANCOMYCIN

I. NGUYÊN LÝ

Vancomycin là một kháng sinh có tác dụng diệt khuẩn bằng cách ức chế giai đoạn tổng hợp vỏ tế bào vi khuẩn ở giai đoạn sớm hơn các kháng sinh thuộc nhóm Beta-Lactam.

Vancomycin trong huyết thanh hoặc huyết tương được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang .

Là xét nghiệm một bước. Bệnh phẩm, anti-vancomycin phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp vancomycin có đánh dấu acridinium được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng. Anti-vancomycin phủ trên vi hạt thuận từ gắn với vancomycin có trong mẫu bệnh phẩm và vancomycin có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang). Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng vancomycin trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Vancomycin, chất chuẩn Vancomycin, chất kiểm tra chất lượng Vancomycin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na-Heparin và K3-EDTA, Sodium Citrat, Sodium Fluorid, Potassium Oxalat. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 8 ngày ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Vancomycin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Vancomycin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Liều điều trị thường có nồng độ đỉnh ở mức 20-40 µg/ mL, nồng độ đáy thường ở mức 5-10 µg/mL. Tuy nhiên nồng độ Vancomycin cần thiết lập riêng cho từng người bệnh trên cơ sở đáp ứng cá thể cũng như sự nhạy cảm của vi khuẩn.
- Nồng độ Vancomycin ở mức 80-100 µg/mL, gây ngộ độc tai và thận. Nếu sử dụng kết hợp với Aminoglycoside, khả năng ngộ độc sẽ tăng lên.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 20 mg/dL .
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dl.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2500 mg/dl.
 - + RF < 500 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).

169. ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN B12

Vitamin B12 là những hợp chất hữu cơ có nguyên tử cobalt ở trung tâm, với tên gọi là những cobalamin và có hoạt tính sinh học trên cơ thể người. Vitamin B12 tham gia phản ứng tổng hợp thymidylate, một thành phần trong phân tử ADN, cung cấp nguyên liệu để tổng hợp ADN, góp phần vào quá trình phân chia tế bào và trưởng thành tế bào trong cơ thể. Thiếu vitamin B12 có ảnh hưởng rõ rệt lên những dòng tế bào có sự phân bào nhiều như các tế bào máu, tế bào biểu mô (nhất là ở niêm mạc đường tiêu hóa). Ngoài ra, thiếu vitamin B12 gây suy thoái chất myelin, một chất béo và là thành phần quan trọng của tế bào thần kinh, gây ra những triệu chứng thần kinh. Định lượng Vitamin B12 thường được chỉ định trong các trường hợp bệnh lý như bệnh máu, bệnh thần kinh...

I. NGUYÊN LÝ

Vitamin B12 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên, mẫu thử được xử lý bằng thuốc thử tiền xử lý Vitamin B12 một B12 nội sinh. Tiếp theo kháng thể kháng Vitamin B12 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) gắn trên protein được cho vào mẫu đã qua tiền xử lý, phức hợp kháng nguyên Vitamin B12 và kháng thể kháng Vitamin B12 được thành lập, lượng phức hợp tạo ra tỉ lệ với nồng độ chất phân tích có trong mẫu.

Thêm vào các vi hạt phủ streptavidin và kháng nguyên Vitamin B12 đánh dấu biotin. Kháng nguyên này sẽ gắn cạnh tranh với kháng thể kháng Vitamin B12 (đánh dấu ruthenium) gắn trên protein. Phức hợp vitamin B12 (trong mẫu bệnh phẩm) - kháng thể kháng vitamin B12 gắn trên protein - kháng nguyên Vitamin B12 đánh dấu biotin được hình thành.

Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ Vitamin B12 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ Vitamin B12 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay

- Hóa chất: Hóa chất tiền xử lý Vitamin B12, Hóa chất định lượng Vitamin B12, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng Vitamin B12

- Máy móc: Có thể sử dụng các máy như Cobas e411, e170, e601. Architect...

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống chống đông bằng Na, Li-heparin hay K3-EDTA.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Mẫu ổn định trong 2 ngày ở 2-8°C, 2 tháng ở -20 °C. Tránh ánh sáng. Độ ổn định của huyết thanh: 24 giờ ở 2-8°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Vitamin B12. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Vitamin B12. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Vitamin B12 đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường Vitamin B12 trong huyết thanh: 179-660 pmol/L

- Vitamin B12 tăng trong: Viêm gan do Virus, Bạch cầu tủy mạn, Đa hồng cầu

- Vitamin B12 giảm trong: Thường ít gặp giảm Vitamin B12 đơn độc: Thiếu máu ác tính, Rối loạn hấp thu, Thiếu máu hồng cầu to, Thiếu Vitamin B12 đặc trưng ở các tổn thương hệ TKTW, rối loạn chức phận neuron.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.0g / dL

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin < 50 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 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).

170. ĐỊNH LƯỢNG PIGF (Placenta Growth Factor)

PIGF là một protein thuộc nhóm VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor - yếu tố tăng trưởng nội mô). Ở người có ít nhất bốn loại PIGF là PIGF-1, PIGF-2, PIGF-3 và PIGF-4. PIGF-1 là một protein dimer bao gồm hai monomer giống hệt nhau trong đó mỗi monomer chứa 131 acid amin. Hai monomer được liên kết với nhau bằng liên kết cộng hóa trị và cầu nối disulfide, khi được glycosyl hóa nó có trọng lượng phân tử 46 kDa. PIGF-2 có 170 acid amin bao gồm cả đoạn peptide tín hiệu 18 acid amin. PIGF-3 có 203 acid amin. PIGF-1 và PIGF-3 liên kết với VEGFR-1 (còn gọi là Flt-1) tạo phức hợp bám trên màng các tế bào nội mô mạch máu. PIGF-4 có 224 acid amin bao gồm các trình tự như PIGF-3, cộng với một vùng gắn kết heparin mà trước đây được cho là chỉ có trong PIGF-2.

PIGF ban đầu được cho là có nguồn gốc rau thai và được đặt tên là yếu tố tăng trưởng rau thai (Placenta Growth Factor - PIGF). Sau này, PIGF còn được thấy trong một số cơ quan khác như tim, phổi, tuyến giáp, cơ xương, và mô mỡ nhưng không có ở thận và tuyến tụy. PIGF có vai trò trong tăng tân tạo mạch máu.

Xét nghiệm PIGF (kết hợp với sFlt-1) được chỉ định trong chẩn đoán sớm và chẩn đoán phân biệt tiền sản giật.

I. NGUYÊN LÝ

PIGF được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. PIGF có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PIGF đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PIGF đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ PIGF có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm PIGF, chất chuẩn PIGF, chất kiểm tra chất lượng PIGF.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không dùng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông do xét nghiệm này yêu cầu sử dụng huyết thanh.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh.
- Bệnh phẩm ổn định 8h ở 2–8°C, 4 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm PIGF. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm PIGF. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm PIGF đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

PIGF thay đổi theo tuổi thai, giá trị tham chiếu như sau:

10 – 14 tuần: 29.4 – 62.8 – 183 pg/mL

15 – 19 tuần: 65.7 – 135 – 203 pg/mL

20 – 23 tuần: 125 – 265 – 541 pg/mL

24 -28 tuần: 130 – 412 – 1108 pg/mL

29 -33 tuần: 73.3 – 439 – 1108 pg/mL

34 – 36 tuần: 62.7 – 232 – 972 pg/mL

>37 tuần: 52.3 – 161 – 659 pg/mL

Khi làm xét nghiệm PIGF thường được làm cùng với sFlt-1 và tính tỷ số sFlt-1/PIGF. Bình thường tỷ số đó như sau:

10 – 14 tuần: 5.21 – 22.7 – 57.3

15 – 19 tuần: 4.32 – 12.6 – 26.9

20 – 23 tuần: 2.19- 6.08 – 14.8

24 -28 tuần: 1.01 – 3.8 – 16.9

29 -33 tuần: 0.945 – 4.03 – 86.4

34 – 36 tuần: 1.38 – 13.3 – 92.0

>37 tuần: 3.65 – 26.2 - 138

Lưu ý: Giá trị tham chiếu trên đây được đưa ra dựa trên những nghiên cứu ở thai phụ thuộc chủng tộc Âu – Mỹ. Giá trị này có thể thay đổi phụ thuộc vào chủng tộc, do vậy cần xây dựng giá trị tham chiếu riêng cho nơi áp dụng.

PIGF có thể sử dụng trong một số bệnh lý như tim mạch, ung thư. Song xét nghiệm PIGF trình bày trong quy trình này dành riêng cho tiền sản giật:

- Trong tiền sản giật, PIGF giảm từ ba tháng giữa thai kỳ nên được dùng để chẩn đoán sớm tiền sản giật kết hợp với sFlt-1 tăng và tỷ số sFlt-1/PIGF tăng.
- Dùng chẩn đoán phân biệt tiền sản giật trong trường hợp thai phụ mắc một số bệnh nội khoa như Tăng huyết áp, Hội chứng thận hư, Lupus ban đỏ hệ thống... trước khi mang thai mà các bệnh này có triệu chứng tương tự tiền sản giật.
- Dùng trong tiên lượng nguy cơ và quản lý tiền sản giật.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng nhầm bệnh phẩm: Sử dụng huyết tương thay vì sử dụng huyết thanh. Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL hay 428 μ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin <0.5 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin <30 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ PIGF tới 100 000 pg/mL.

+ RF <600 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).

171. ĐỊNH LƯỢNG sFlt-1 (Soluble FMS like tyrosinkinase - 1)

I. NGUYÊN LÝ

sFlt-1 là một protein có vai trò đối kháng với PlGF (có vai trò tăng tân tạo mạch máu), do vậy nó làm giảm quá trình tân tạo mạch và được gọi dưới cái tên yếu tố kháng tân tạo mạch máu. Xét nghiệm sFlt-1 (kết hợp với PlGF) được chỉ định trong chẩn đoán sớm và chẩn đoán phân biệt tiền sản giật.

sFlt-1 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. sFlt-1 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng sFlt-1 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng sFlt-1 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ sFlt-1 có trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm sFlt-1, chất chuẩn sFlt-1, chất kiểm tra chất lượng sFlt-1.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước lúc lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông do xét nghiệm này yêu cầu sử dụng huyết thanh.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm phút tách lấy huyết thanh.
- Bệnh phẩm ổn định 3 giờ ở 18-25°C, 8 giờ ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm sFlt-1. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm sFlt-1. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm sFlt-1 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

sFlt-1 thay đổi theo tuổi thai, giá trị tham chiếu như sau:

10 – 14 tuần: 555 – 1445 - 2361 pg/mL

15 – 19 tuần: 470 – 1459 - 2785 pg/mL

20 – 23 tuần: 649- 1576 - 2944 pg/mL

24 -28 tuần: 630 – 1449 - 3890 pg/mL

29 -33 tuần: 707 – 1934 - 6688 pg/mL

34 – 36 tuần: 978 – 2972 - 9921 pg/mL

>37 tuần: 1671 – 4400 - 11324 pg/mL

Khi làm xét nghiệm, sFlt-1 thường được làm cùng với PIGF và tính tỷ số sFlt-1/PIGF. Bình thường tỷ số đó như sau:

10 – 14 tuần: 5.21 – 22.7 – 57.3

15 – 19 tuần: 4.32 – 12.6 – 26.9

20 – 23 tuần: 2.19- 6.08 – 14.8

24 -28 tuần: 1.01 – 3.8 – 16.9

29 -33 tuần: 0.945 – 4.03 – 86.4

34 – 36 tuần: 1.38 – 13.3 – 92.0

>37 tuần: 3.65 – 26.2 - 138

Lưu ý: Giá trị tham chiếu trên đây được đưa ra dựa trên những nghiên cứu ở thai phụ thuộc chủng tộc Âu - Mỹ. Giá trị này có thể thay đổi phụ thuộc vào chủng tộc, do vậy cần xây dựng giá trị tham chiếu riêng cho nơi áp dụng.

sFlt-1 có thể sử dụng trong một số bệnh lý như tim mạch, ung thư. Song xét nghiệm sFlt-1 trình bày trong quy trình này dành riêng cho tiền sản giật:

- Trong tiền sản giật, sFlt-1 tăng trước khi xuất hiện triệu chứng lâm sàng từ 5 - 8 tuần nên được dùng để chẩn đoán sớm tiền sản giật kết hợp với PIGF giảm và tỷ số sFlt1/PIGF tăng.

- Dùng chẩn đoán phân biệt tiền sản giật trong trường hợp thai phụ mắc một số bệnh nội khoa như Tăng huyết áp, Hội chứng thận hư, Lupus ban đỏ hệ thống... trước khi mang thai mà các bệnh này có triệu chứng tương tự tiền sản giật.

- Dùng trong tiên lượng nguy cơ và quản lý tiền sản giật.

V.NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng nhầm bệnh phẩm: Sử dụng huyết tương thay vì sử dụng huyết thanh. Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL hay 428 μ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin <0.5 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1400 mg/dl.

+ Biotin <30 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ sFlt-1 tới 200 000 pg/mL.

+ RF <600 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).

B. NƯỚC TIỂU

172. ĐỊNH LƯỢNG CÁC CHẤT ĐIỆN GIẢI

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng các chất điện giải (Na, K, Clo) bằng phương pháp điện cực chọn lọc.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích sinh hóa
- Hóa chất:
 - + Điện cực chuẩn
 - + Điện cực Na, K, Clo.
 - + Hóa chất được bảo quản ở 25-30⁰C, hạn sử dụng theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Nước tiểu; bảo quản ở 2-8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25- 30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm NA, K, CLO.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm Na, K, Clo theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn Na, K, Clo.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm NA, K, CLO. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng nước tiểu và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

- Na: 120-130 mmol/24h
- K: 35 – 120 mmol/24h
- Clo: 120-140 mmol/24h
- + Kali niệu tăng trong:
 - Dùng các hormone steroid
 - Hội chứng Cushing
 - Viêm thận mất kali
- + Kali niệu giảm trong
 - Các bệnh thận có sự giảm đào thải nước tiểu: viêm cầu thận cấp, suy thận giai đoạn cuối
 - Thiếu năng vỏ thượng thận...
- + Na niệu tăng trong:
 - Rối loạn cân bằng nước.
 - Thiếu năng thượng thận...
- + Na niệu giảm:
 - Xơ gan..
- + Clo niệu tăng trong:
 - Tổn thương ống niệu, mất muối do thận
 - Thiếu năng vỏ thượng thận, giảm sự hấp thu muối.
- + Clo máu giảm trong:
 - Mất nhiều mồ hôi.
 - Hội chứng Cushing, dùng các corticoid thượng thận.
 - Đái tháo nhạt

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

173. ĐỊNH TÍNH AMPHETAMIN

I. NGUYÊN LÝ

Sắc ký miễn dịch cạnh tranh: amphetamin trong mẫu nước tiểu cạnh tranh với amphetamin ở những vị trí gắn kết kháng thể. Trong quá trình xét nghiệm, mẫu nước tiểu thâm lên trên dọc theo màng thấm kit thử nhờ mao dẫn. Amphetamin, nếu có mặt trong nước tiểu với nồng độ thấp hơn 300 ng/ml, sẽ không thể bão hòa các vị trí gắn kết của những phần tử phủ kháng thể trên kit thử. Những phần tử này sẽ bị giữ lại sau đó bởi liên hợp amphetamin bất động và hình thành vạch màu trên vùng kết quả. Vạch màu không được hình thành trên vùng kết quả nếu mức độ amphetamin trên 300 ng/ml vì nó bão hòa được tất cả các vị trí gắn kết của kháng thể kháng amphetamin. Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm, một vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (gọi là vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Hóa chất:

- Thanh thử amphetamin
- Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30⁰C, hạn sử dụng theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Nước tiểu; bảo quản ở 2 – 8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 – 30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị thanh thử amphetamin.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu
- Đọc kết quả sau 5 phút:
 - + Dương tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C

- + Âm tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- 1. Giá trị bình thường:** Âm tính
- 2. Dương tính:** sử dụng các loại thuốc có chứa amphetamin.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Nước tiêu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mỡ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

174. ĐỊNH LƯỢNG AMPHETAMIN

I. NGUYÊN LÝ

Amphetamin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn β galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Amphetamin nó tác động lên Amphetamin tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Amphetamin trong mẫu cạnh tranh với Amphetamin liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của β Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Amphetamin có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Amphetamin không có mặt trong mẫu thử. Amphetamin liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ β Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Amphetamin trong mẫu thử

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Amphetamin, chất chuẩn Amphetamin, chất kiểm tra chất lượng Amphetamin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm Amphetamin trong nước tiểu sử dụng cut-off là 500 ng/mL tùy lựa chọn so với mẫu nước tiểu âm tính.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Aceton < 1g/dL

+ Acid Ascorbic < 1.5 g/dL

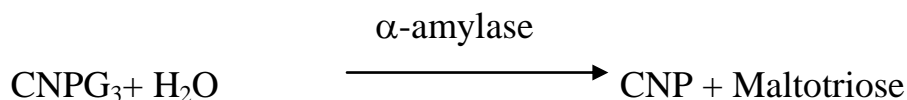
+ Ethanol < 1 mg/dL.

- 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 kết quả).

175. ĐO HOẠT ĐỘ AMYLASE

I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ của Amylase xác định theo phương pháp động học enzym.



CNPG₃ : 2-chloro-nitrophenyl- α -D-maltotrioside

CNP : 2-chloro-nitrophenol

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy AU

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích AU 400, AU 640...

- Hoá chất:

+ Hoá chất của hãng Olympus: Bảo quản tránh ánh sáng. Ổn định trong 90 ngày sau khi mở nắp và bảo quản trên máy. Hủy bỏ hóa chất khi có bất kỳ dấu hiệu mất màu nào.

+ Hoá chất của hãng Diasys : Bảo quản tránh ánh sáng. Ổn định trong 42 ngày sau khi mở nắp và bảo quản trên máy.

+ Huyết thanh kiểm tra chất lượng của Biorad

3. Người bệnh: Người bệnh đau bụng nghi ngờ viêm tụy hoặc sung tuyến mang tai nghi ngờ quai bị

4. Phiếu xét nghiệm: Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu ngẫu nhiên: Ổn định trong 10 ngày ở 2-8°C, 2 ngày ở 15-25°C

2. Tiến hành kỹ thuật

Bệnh phẩm được phân tích trên máy AU 400 và AU 640

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường

- Nước tiểu: 42-321 U/l

2. Amylase nước tiểu tăng trong

- Các bệnh về tụy: viêm tụy cấp và mạn.

- Bệnh đường mật.

- Bệnh ổ bụng không phải bệnh tụy (loét thủng dạ dày và tắc ruột...)

- Quai bị, viêm tuyến nước bọt

V.NHỮNG SAI SỐT VÀ XỬ TRÍ.

Mẫu nước tiểu:

- Nồng độ bilirubin 684 $\mu\text{mol/l}$ gây nhiễu dưới 10% kết quả

- Nồng độ haemoglobin 5 g/l gây nhiễu dưới 5% kết quả

- Nồng độ Vitamin C 50mg/dl gây nhiễu dưới 5% kết quả

176. ĐỊNH LƯỢNG AXIT URIC

I. NGUYÊN LÝ

Đo quang enzyme so màu: acid uric chuyển thành allantoin và peroxide dưới tác dụng của uricase. Peroxide phản ứng với 3,5-dichloro-2-hydrobenzenesulfonic acid và 4-aminophenazone với sự có mặt của peroxidase tạo phức chất quinoneimine có màu tím đỏ. Mật độ quang được đo.

ở bước sóng 520/660 nm tỉ lệ với nồng độ acid uric trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

2.2. Hóa chất

- Uricase
- 3,5-dichloro-2-hydrobenzenesulfonic
- 4-aminophenazone
- Peroxidase
- Chất bảo quản

Hóa chất được bảo quản ở 2 - 8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở 2 - 8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25-30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

Bệnh phẩm hòa loãng 1/5 với nước cất; kết quả thu được nhân với độ hòa loãng.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm acid uric.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm acid uric theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn acid uric.

- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm acid uric. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu: 1.2- 5.9 mmol/24giờ

2. Acid uric nước tiểu tăng trong

- Bệnh đa hồng cầu Vaquez.
- Xạ trị.
- Bệnh bạch cầu.
- Viêm phổi.
- Dùng thuốc lợi niệu...

3. Acid uric nước tiểu giảm trong

- Suy thận.
- Điều trị bằng Allopurinol...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8⁰C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

177. ĐỊNH LƯỢNG BARBITURATES

I. NGUYÊN LÝ

Barbiturates được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn β galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Barbiturates nó tác động lên Barbiturates tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Barbiturates trong mẫu cạnh tranh với Barbiturates liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của β Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Barbiturates có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Barbiturates không có mặt trong mẫu thử. Barbiturates liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ β Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Barbiturates trong mẫu thử

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Barbiturates, chất chuẩn Barbiturates, chất kiểm tra chất lượng Barbiturates.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Barbiturates. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Barbiturates. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Barbiturates đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm Barbiturates trong nước tiểu sử dụng cut-off là 200 hay 300 ng/mL tùy lựa chọn so với mẫu nước tiểu âm tính.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Aceton < 1g/dL
 - + Acid Ascorbic < 0.15 g/dL
 - + Ethanol < 1 mg/dL.
- 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 kết quả).

178. ĐỊNH LƯỢNG BENZODIAZEPIN

I. NGUYÊN LÝ

Benzodiazepin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn β galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Benzodiazepin nó tác động lên Benzodiazepin tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Benzodiazepin trong mẫu cạnh tranh với Benzodiazepin liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của β Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Benzodiazepin có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Benzodiazepin không có mặt trong mẫu thử. Benzodiazepin liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ β Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Benzodiazepin trong mẫu thử

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Benzodiazepin, chất chuẩn Benzodiazepin, chất kiểm tra chất lượng Benzodiazepin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Benzodiazepin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Benzodiazepin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Benzodiazepin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm Benzodiazepin trong nước tiểu sử dụng cut-off là 200 hay 300 ng/mL tùy lựa chọn so với mẫu nước tiểu âm tính.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Aceton < 1g/dL
 - + Acid Ascorbic < 0.15 g/dL
 - + Ethanol < 1 mg/dL.
- 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 kết quả).

179. ĐỊNH TÍNH β HCG

I. NGUYÊN LÝ

Miễn dịch: Que thử có chứa một kháng thể đơn dòng kháng β HCG. Nếu mẫu có chứa β HCG sẽ tạo thành một phức hợp với kháng thể đơn dòng kháng β HCG (xuất hiện hai vạch phản ứng); nếu β HCG không có trong mẫu, hoặc một hàm lượng rất thấp, chỉ xuất hiện một vạch phản ứng.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Hóa chất:

- Thanh thử β HCG
- Hóa chất được bảo quản ở 25-30⁰C, hạn sử dụng theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

Nước tiểu; bảo quản ở 2-8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25- 30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị thanh thử β HCG.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu
- Đọc kết quả sau 5 phút:
 - + Âm tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C
 - + Dương tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu: Âm tính

2. Dương tính: có thai.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

180. ĐỊNH LƯỢNG CALCI

I. NGUYÊN LÝ

Đo quang so màu: ion Ca^{++} phản ứng với Arsenazo III tạo phức chất có màu tím. Mật độ quang được đo ở bước sóng 660/700 nm, tỉ lệ với nồng độ calci trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,...

2.2. Hóa chất

- Imidazole (pH 6.5)
- Arsenazo III
- Triton X-100

Hóa chất được bảo quản ở $2 - 8^{\circ}\text{C}$. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ.

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở $2 - 8^{\circ}\text{C}$, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở $25 - 30^{\circ}\text{C}$, ổn định trong vòng 2 ngày.

Bệnh phẩm hòa loãng 1/5 với nước cất; kết quả thu được nhân với độ hòa loãng.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm calci.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm calci theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn calci.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm calci. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường: 2.5 - 8.0 mmol/24giờ

2. Calci nước tiểu tăng trong

- Cường cận giáp, Bệnh to cực.
- Loãng xương.
- Viêm thận mạn.
- Thừa Vitamin D
- Lao phổi, đa u tuỷ xương...

3. Calci nước tiểu giảm trong

- Nhược cận giáp, nhược giáp.
- Thiếu Vitamin D.
- Nhuyễn xương.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8⁰C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

181. ĐỊNH LƯỢNG CATECHOLAMIN

I. NGUYÊN LÝ

Catecholamin trong nước tiểu được định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Máy phân tích sắc ký lỏng cao áp.

Hóa chất:

- Internal standard
- Dilution Reagent
- Basic Reagent
- Acidic Reagent,
- Wash
- Elution Reagent/

Hóa chất được bảo quản ở 2- 8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24giờ

Nước tiểu 24 giờ được bảo quản bằng 5ml HCl 37% ở 2- 8⁰C.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm CATECHOLAMIN.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm CATECHOLAMIN theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn CATECHOLAMIN.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm CATECHOLAMIN. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng nước tiểu và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

- Epinephrin: 9.2 - 122.3 nmol/24giờ.
- Norepinephrin: 71.5 - 505.3 nmol/24giờ.
- Dopamin: 0 - 3227 nmol/24giờ.

2. Tăng trong: U tủy thượng thận

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Nước tiểu 24giờ của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, có pH đạt 1.0- 3.0, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

182. ĐỊNH LƯỢNG COCAIN

I. NGUYÊN LÝ

Cocain được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn β galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Cocain nó tác động lên Cocain tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Cocain trong mẫu cạnh tranh với Cocain liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của β Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Cocain có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Cocain không có mặt trong mẫu thử. Cocain liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ β Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Cocain trong mẫu thử

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Cocain, chất chuẩn Cocain, chất kiểm tra chất lượng Cocain.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Cocain. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Cocain. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Cocain đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm Cocain trong nước tiểu sử dụng cut-off là 150 hay 300 ng/mL tùy lựa chọn so với mẫu nước tiểu âm tính.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Aceton < 1g/dL
 - + Acid Ascorbic <0.15 g/dL
 - + Ethanol <1 mg/dL.
- 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 kết quả).

183. ĐỊNH LƯỢNG CORTISOL

I. NGUYÊN LÝ

Cortisol được định lượng bằng phương pháp miễn dịch điện hóa phát quang theo nguyên lý cạnh tranh thực hiện trên máy Elecsys hoặc hệ thống Cobas.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy Elecsys hoặc Cobas

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy Elecsys 1010, 2010 hoặc hệ thống Cobas 6000, 8000.
- Máy ly tâm và các dụng cụ xét nghiệm khác
- Hoá chất làm xét nghiệm cortisol của hãng ROCHE:
- Bảo quản ở 2-8°C.
- Lọ hoá chất phải luôn để thẳng đứng để đảm bảo các vi hạt không bám dính trên thành lọ hóa chất.
- Hoá chất ổn định đến hạn sử dụng khi chưa mở nắp, 12 tuần sau khi mở nắp ở 2-8°C, 8 tuần trên máy.
- Dung dịch kiểm tra cortisol của hãng Roche: Elecsys PreciControl Universal 1 và 2 hoặc của hãng Biorad.

3. Người bệnh: người bệnh nghi ngờ có bệnh lý của tuyến thượng thận, tuyến yên

4. Phiếu xét nghiệm: Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Nước tiểu 24 giờ không sử dụng chất bảo quản. Ly tâm bệnh phẩm nếu nước tiểu đục. Bệnh phẩm không ly tâm có thể để trong 7 ngày ở 2-8 °C, 3 tháng ở -20°C. Bệnh phẩm đã ly tâm có thể để trong 7 ngày ở 2-8°C, 4 tuần ở -20°C. Chỉ rẽ đông 1 lần.
- Bệnh phẩm, dung dịch chuẩn (calibrator) và huyết thanh kiểm tra (control) phải để ổn định ở nhiệt độ phòng (20-25°C) trước khi đo và làm xét nghiệm trong vòng 2 giờ.

2. Tiến hành kỹ thuật

Bệnh phẩm được quay ly tâm và đưa vào phân tích tự động trên máy theo quy trình hoạt động của máy. Kết quả được máy in tự động in ra.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Nước tiểu 24 giờ: 100-379nmol/24 giờ.

- Cortisol nước tiểu tăng trong:

Có thai (tháng thứ 3-9), cường vỏ thượng thận, stress, hội chứng Cushing, u vỏ thượng thận, choáng nặng, cường giáp, dùng ACTH, cường yên, sản giật.

- Cortisol nước tiểu giảm:

Bệnh Addison (nhược năng vỏ thượng thận), nhược năng vùng dưới đồi-tuyến yên, nhược giáp.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Xét nghiệm cortisol bị ảnh hưởng trong các trường hợp sau:

+ Protein : 0,6 g/l

+ NaCl : 750 mmol/l

+ Ure : 350 mmol/l

+ Creatinin: 5 mmol/l

+ Glucose: 2 mmol/l

- Người bệnh đang dùng prednisolone, methylprednisolone hoặc prednisone cũng làm sai lệch kết quả

- GIỚI HẠN ĐO:

+ Giới hạn đo của cortisol là 0,5- 1750 nmol/l

+ Khi nồng độ cortisol vượt quá giới hạn này có thể pha loãng bệnh phẩm bằng dung dịch Elecsys Diluent Universal của hãng theo tỉ lệ 1:10.

184. ĐỊNH LƯỢNG CREATININ

I. NGUYÊN LÝ

Động học so màu: creatinin tạo phức hợp màu vàng cam với acid picric trong môi trường kiềm (phương pháp Jaffe). Sự thay đổi mật độ quang được đo ở bước sóng 520/800 nm tỉ lệ với nồng độ creatinin trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

2.2. Hóa chất

- Sodium hydroxide
- Picric acid
- Chất bảo quản

Hóa chất được bảo quản ở 2-8⁰C, tránh ánh sáng trực tiếp. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở 2 - 8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25-30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

Bệnh phẩm hòa loãng 1/50 với nước cất; kết quả thu được nhân với độ hòa loãng.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm creatinin.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm creatinin theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn creatinin.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm creatinin. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho

người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu:

- Nam: 9.0 – 21.0 mmol/24giờ
- Nữ: 7.0 – 14.0 mmol/24 giờ

2. Creatinin nước tiểu tăng trong

- Cường giáp, bệnh của cơ...
- Tiểu đường kèm dinh dưỡng kém.
- Kinh nguyệt, có thai, sau đẻ.

3. Creatinin nước tiểu giảm trong

Suy thận.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Mẫu nước tiểu 24giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8⁰C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

185. ĐỊNH LƯỢNG DƯỠNG CHẤP

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng dưỡng hấp bằng Enzym so màu: triglycerrid trong mẫu nước tiểu bị thủy phân dưới tác dụng của lipase tạo glycerol. Glycerol tham gia phản ứng phosphoryl hóa tạo glycerol-3-phosphate; glycerol-3-phosphate bị oxy hóa tạo ra H_2O_2 ; H_2O_2 phản ứng với 4AAP và 4-Chlorophenol tạo hợp chất có màu đỏ. Độ đậm của màu tỷ lệ với nồng độ triglyceride (thành phần chính của dưỡng chấp) trong nước tiểu.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

2.2. Hóa chất

- 4-Chlorophenol
- 4-Aminoantipyrin
- ATP
- Chất bảo quản.

Hóa chất được bảo quản ở 2 - 8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Nước tiểu, bảo quản ở 2 - 8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 - 30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm dưỡng chấp.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm dưỡng chấp theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn dưỡng chấp.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm dưỡng chấp. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho

người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- **Trị số bình thường:** Âm tính

- **Bệnh lý:** đái ra đường chấp với nồng độ cụ thể tùy từng trường hợp bệnh nhân (g/L)

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8⁰C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

186. ĐỊNH TÍNH DƯỠNG CHẤP

I. NGUYÊN LÝ

Dùng ete để chiết xuất dưỡng chấp. Sau đó cho bay hơi ete còn lại cặn dưỡng chấp có màu vàng

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên phòng xét nghiệm

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

Bình cỡ 200 ml, bát sứ

2.2. Hóa chất

- Dung dịch cồn Amoniac

Cồn 90⁰ 4,7 ml

Amoniac đặc 15 ml

Nước cất vừa đủ 500 ml

- Dung dịch Adam

Ete 11 ml

Cồn Amoniac 10 ml

Dung dịch này pha khi làm

3. Người bệnh

Chế độ ăn chất béo một ngày hoặc một đêm trước xét nghiệm cần được thực hiện để làm tăng dưỡng chấp niệu

4. Phiếu xét nghiệm: Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu ngẫu nhiên

2. Tiến hành kỹ thuật

- Cho vào bình cỡ 200 ml

+ Nước tiểu: 10 ml

- + Amoniac: 5 giọt
- + Dung dịch Adam: 21 ml
- Lắc nhẹ, để 15 phút
- Gạn bỏ phần nước ở dưới, rửa 2 lần bằng nước cất, mỗi lần khoảng 5- 10 ml.
- Gạn bỏ nước, tráng bình bằng 2ml ete.
- Gạn ete vào bát sứ, làm khô bằng cách thủy sôi.
- Lau khô nước bám vào bát sứ, đặt vào bình hút ẩm độ vài giờ.
- Nếu có một lớp vàng bám vào bát sứ là dương tính

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Dưỡng chấp niệu do ký sinh trùng, là loại chủ yếu, gặp ở vùng nhiệt đới (Parasitic, primary, tropical): các ký sinh trùng có thể gây dưỡng chấp niệu gồm:

- Giun chỉ (*Wuchereria bancrofti*)
- Sán dây (*Taenia echinococcus*)
- Sán nana (*Taenia nana*)
- Các ký sinh trùng sốt rét (Malarial parasites)

2. Dưỡng chấp niệu không do ký sinh trùng, là loại thứ yếu, không gặp ở vùng nhiệt đới (Nonparasitic, secondary: nontropical)

- Bệnh bẩm sinh (Congenital)
- Các u bạch huyết đường tiết niệu (Lymphangiomas of urinary tract)
- Mạch bạch huyết lớn ở niệu đạo hoặc bàng quang bị rò
- Chứng hẹp ống ngực
- Rò ống thanh dịch sau phúc mạc
- Rò đường bạch huyết - tiết niệu do chấn thương
- Tắc đường bạch huyết do:
 - + Tắc ống ngực do khối u
 - + Các tuyến u hạt, phình động mạch chủ và các dị tật
 - + Tắc các ống bạch huyết sau phúc mạc do một số nguyên nhân
- Các nguyên nhân khác:
 - + Thai nghén
 - + Đái tháo đường

+ Thiếu máu ác tính (Perniceous anaemia)

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

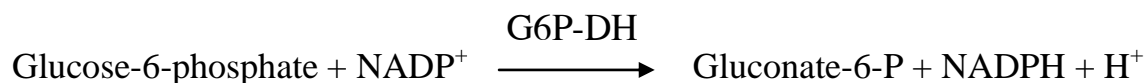
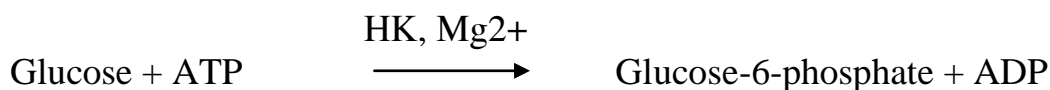
- Do xét nghiệm ete kém nhạy với trường hợp dưỡng chấp niệu nhẹ nên có thể kết hợp với xét nghiệm đánh giá độ đục.

- Gần đây, người ta cũng sử dụng phương pháp điện di để phát hiện các thành phần lipid của nước tiểu và triglycerid của nước tiểu đã được chứng minh có mặt nếu triệu chứng lâm sàng là rõ ràng. Xét nghiệm triglycerid có độ nhạy và độ đặc hiệu 100% đối với dưỡng chấp niệu. Đây là một xét nghiệm không xâm lấn và không phụ thuộc vào sai số thực hành. Các giá trị được đánh giá của chylomicron, triglycerid và cholesterol trong nước tiểu có thể chỉ dẫn mức độ bất thường của bệnh.

187. ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng glucose theo phương pháp Hexokinase.



HK: hexokinase

G6P-DH: glucose-6-phosphate dehydrogenase

Đo ở bước sóng 340 nm

III. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy AU.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích AU 400, AU 640...

- Hóa chất

+ Hóa chất của Olympus (phương pháp Hexokinase): Bảo quản tránh ánh sáng. Ổn định trong 30 ngày sau khi mở nắp và bảo quản trên máy.

+ Hóa chất của Stanbio (phương pháp Hexokinase): Bảo quản tránh ánh sáng. Ổn định trong 90 ngày sau khi mở nắp và bảo quản trên máy.

+ Huyết thanh kiểm tra chất lượng của Biorad

3. Người bệnh: nghi ngờ người bệnh đái tháo đường

4. Phiếu xét nghiệm: Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu tươi, lấy ngẫu nhiên, ổn định trong 2 giờ ở nhiệt độ 20 – 25⁰C. Đo càng sớm càng tốt. Để tăng độ nhạy nên lấy nước tiểu sau ăn

2. Tiến hành kỹ thuật

Bệnh phẩm được phân tích trên máy AU 400 và AU 640 ...

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường:

Glucose trong nước tiểu:

+ Trị số bình thường: 0,1 – 0,8 mmol/l

+ Glucose xuất hiện trong nước tiểu khi ngưỡng thận thấp, khi bị đái tháo đường, khi dùng ACTH hay corticoid kéo dài...

2. Đây là xét nghiệm vừa ít nhạy, vừa không đặc hiệu nên ít được sử dụng, người ta chỉ dùng xét nghiệm này khi không làm được xét nghiệm máu. Kết quả glucose niệu dương tính đòi hỏi một xét nghiệm về glucose máu để xác minh.

V.NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

Mẫu nước tiểu:

- Nồng độ ascorbate 50mg/dL gây nhiễu dưới 3% kết quả.

- Nồng độ bilirubin 684 $\mu\text{mol/l}$ gây nhiễu dưới 3% kết quả.

188. ĐỊNH TÍNH MARIJUANA

I. NGUYÊN LÝ

Sắc ký miễn dịch cạnh tranh: marijuana trong mẫu nước tiểu cạnh tranh với marijuana ở những vị trí gắn kết kháng thể. Trong quá trình xét nghiệm, mẫu nước tiểu thấm lên trên dọc theo màng thấm kit thử nhờ mao dẫn. Marijuana, nếu có mặt trong nước tiểu với nồng độ thấp hơn 300 ng/ml, sẽ không thể bão hòa các vị trí gắn kết của những phân tử phủ kháng thể trên kit thử. Những phân tử này sẽ bị giữ lại sau đó bởi liên hợp marijuana bất động và hình thành vạch màu trên vùng kết quả. Vạch màu không được hình thành trên vùng kết quả nếu mức độ marijuana trên 300 ng/ml vì nó bão hòa được tất cả các vị trí gắn kết của kháng thể kháng marijuana. Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm, một vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (gọi là vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Hóa chất:

- Thanh thử marijuana
- Hóa chất được bảo quản ở 25 - 30⁰C.

3. Người bệnh

Nước tiểu; bảo quản ở 2 - 8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 - 30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu
- Đọc kết quả sau 5 phút:
 - + Dương tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C
 - + Âm tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị bình thường: Âm tính
- Dương tính: sử dụng các loại thuốc có chứa marijuana.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

- Nước tiêu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.
- Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

189. ĐỊNH LƯỢNG MAU

(Microalbumin in urine – Micro albumin trong nước tiểu)

I. NGUYÊN LÝ

Miễn dịch đo độ đục: MAU phản ứng đặc hiệu với kháng thể kháng MAU tạo hợp chất không tan làm đục môi trường. Mật độ quang của môi trường phản ứng tỷ lệ với nồng độ MAU trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

2.2. Hóa chất

-Kháng thể kháng albumin

Hóa chất được bảo quản ở 2-8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

Nước tiểu, bảo quản ở 2 - 8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 - 30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm MAU.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm MAU theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn MAU.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm MAU. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng nước tiểu và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- **Trị số bình thường:** < 30 mg/24giờ
- **MAU tăng trong:** Phát hiện sớm biến chứng thận ở người bệnh đái tháo đường, tăng huyết áp.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Nước tiêu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

190. ĐỊNH LƯỢNG METHADON

I. NGUYÊN LÝ

Methadon được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn β galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Methadon nó tác động lên Methadon tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Methadon trong mẫu cạnh tranh với Methadon liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của β Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Methadon có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Methadon không có mặt trong mẫu thử. Methadon liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ β Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Methadon trong mẫu thử

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Methadon, chất chuẩn Methadon, chất kiểm tra chất lượng Methadon.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích. Thời gian ổn định của Methadon trong nước tiểu từ 15 - 25 giờ tùy pH nước tiểu.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Methadon. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Methadon. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Methadon đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm Methadon trong nước tiểu sử dụng cut-off là 300 ng/mL

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Aceton < 1g/dL
- + Acid Ascorbic <1.5 g/dL
- + Ethanol <1 mg/dL.

- 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 kết quả).

191. ĐỊNH LƯỢNG NGAL

(Urine Neutrophil Gelatinase - Associated Lipocalin)

I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm NGAL trong nước tiểu để định lượng lipocalin trung tính có liên hệ với gelatinase trong nước tiểu người. NGAL là một trong những protein được sản sinh trong thận sau chứng thiếu máu cục bộ hay ngộ độc thận.

Xét nghiệm định lượng NGAL trong nước tiểu là xét nghiệm miễn dịch hai bước sử dụng phép phân tích miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm linh hoạt để định lượng NGAL trong nước tiểu người. Bước 1: mẫu thử và dung dịch đệm được kết hợp với nhau tạo độ pha loãng mẫu tỉ lệ 1:10. Mẫu đã pha loãng với dung dịch đệm và vi hạt thuận từ phủ anti-NGAL được kết hợp lại. NGAL có trong mẫu thử liên kết với anti-NGAL phủ trên vi hạt thuận từ, rửa hỗn hợp phản ứng. Sau đó anti-NGAL có đánh dấu acridinium được cho vào ở bước hai. Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng NGAL trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân XN được đào tạo vận hành máy Architect

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện:

- Máy Architect ir1000
- Ống hay lọ sạch dùng để lấy nước tiểu.

2.2. Hóa chất:

Bộ thuốc thử, 100 test/500 test ARCHITECT NAGL

- Các vi hạt: 1 chai (6,6 mL / 27,0 mL) Anti-NGAL (chuột, kháng thể đơn dòng) phủ trên vi hạt trong dung dịch đệm TRIS với chất ổn định và tẩy protein (từ bò). Nồng độ tối thiểu: 0,08% rắn. Chất bảo quản: ProCloid 300
- Chất kết hợp: 1 chai (5,9 mL / 26,3 mL) Anti-NGAL (chuột, kháng thể đơn dòng) chất kết hợp có đánh dấu acridinium trong dung dịch đệm TRIS với chất ổn định và tẩy protein (từ bò). Nồng độ tối thiểu: 200 ng/mL.

3. Người bệnh: Những người bệnh nghi ngờ suy thận cấp

4. Phiếu xét nghiệm: Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện và của Bộ Y tế

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Loại mẫu dùng cho xét nghiệm ARCHITECT Urine NGAL chỉ là mẫu nước tiểu người. Lấy mẫu nước tiểu bất kỳ.

- Điều kiện mẫu: Không sử dụng mẫu có tạp chất, nhiễm khuẩn, nhiễm nấm thấy bằng mắt thường. Không dùng cho tử thi hay dịch cơ thể.

- Chuẩn bị phân tích: Ngay khi lấy mẫu trong vòng 24 giờ, mẫu phải chuyển sang ống ly tâm và ly tâm ở ≥ 400 RCF (Relative Centrifugal Force) tối thiểu trong 5 phút. Sau đó hút phân dịch trong sang cốc đựng mẫu hay ống tuýp thứ hai để chạy xét nghiệm và/hoặc để lưu.

- Bảo quản:

Mẫu bảo quản 24h ở nhiệt độ phòng (22-30°C) hay 7 ngày ở 2-8°C. Nếu chưa thực hiện xét nghiệm, mẫu nên để đông lạnh $\leq -70^\circ\text{C}$

2. Tiến hành kỹ thuật

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT NGAL vào hệ thống ARCHITECT ir1000.

- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.

- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy lại.

- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng.

- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng NGAL ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.

- Yêu cầu chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng NGAL phải giữ theo chiều thẳng đứng và nhỏ 5 giọt mẫu chuẩn hay 5 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng vào từng cup đựng mẫu tương ứng. Sau đó nạp mẫu và nhấn nút RUN.

Quy trình pha loãng mẫu: Mẫu với nồng độ NGAL nước tiểu > 1500 ng/mL được đánh dấu (flag) có thể được pha loãng bằng quy trình pha loãng tự động. Người vận hành sẽ đặt lệnh pha loãng theo tỉ lệ 1:4 cho mẫu, máy tự động tính toán nồng độ của mẫu và báo cáo kết quả.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm NGAL trong nước tiểu để định lượng licapolin trung tính gắn với gelatinase trong nước tiểu người. Định lượng NGAL trong nước tiểu người như là một dấu ấn phát hiện sớm suy thận cấp.

1. Bình thường: Nồng độ NGAL trong nước tiểu $\leq 131,7$ ng/mL

2. Giới hạn đo của máy: từ 10 ng/mL đến 1500 ng/mL.

3. Bệnh lý

- NGAL là một trong những protein được sản sinh trong thận sau chứng thiếu máu cục bộ hay ngộ độc thận.

- Nồng độ NGAL cao trong nước tiểu trong vòng 2 giờ sau chấn thương thận, trong ngộ độc thận hay thiếu máu cục bộ thận. Định lượng NGAL trong nước tiểu giúp cho lâm sàng chẩn đoán sớm suy thận cấp và theo dõi người bệnh.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Thận trọng khi xử lý các mẫu xét nghiệm của người bệnh để ngăn ngừa nhiễm chéo. Nên sử dụng pipet dùng một lần hay pipet có đầu côn.

- Nếu mẫu được bảo quản, trộn tất cả các mẫu ở nhiệt độ thấp hoặc lắc đảo ngược 10 lần. Quan sát mẫu bằng mắt thường cho đến khi mẫu không còn bị phân lớp. Nếu chưa được, tiếp tục thực hiện lắc trộn mẫu cho đến khi mẫu đồng nhất. Ly tâm theo hướng dẫn ở trên trước khi thực hiện xét nghiệm để tránh sai sót.

192. ĐỊNH LƯỢNG OPIAT

I. NGUYÊN LÝ

Opiat nước tiểu được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzym

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Opiat, chất chuẩn Opiat, chất kiểm tra chất lượng Opiat.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Opiat. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Opiat. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Opiat đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đọc máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm Opiat trong nước tiểu sử dụng cut-off là 300 ng/mL.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Aceton < 1g/dL

+ Acid Ascorbic < 0.15 g/dL

+ Ethanol < 1 mg/dL.

- 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 kết quả).

193. ĐỊNH TÍNH MORPHIN

I. NGUYÊN LÝ

Định tính Morphin bằng kỹ thuật sắc ký miễn dịch cạnh tranh: Morphin trong mẫu nước tiểu cạnh tranh với morphin ở những vị trí gắn kết kháng thể. Trong quá trình xét nghiệm, mẫu nước tiểu thấm lên trên dọc theo màng thấm kit thử nhờ mao dẫn. Morphin, nếu có mặt trong nước tiểu với nồng độ thấp hơn 300 ng/ml, sẽ không thể bão hòa các vị trí gắn kết của những phân tử phủ kháng thể trên kit thử. Những phân tử này sẽ bị giữ sau đó bởi liên hợp morphin bất động và hình thành vạch màu trên vùng kết quả. Vạch màu không được hình thành trên vùng kết quả nếu mức độ morphin trên 300 ng/ml vì nó bão hòa được tất cả các vị trí gắn kết của kháng thể kháng morphin. Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm, một vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (gọi là vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Hóa chất:

- Thanh thử morphin

Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30⁰C.

3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

Nước tiểu; bảo quản ở 2 – 8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 – 30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu
- Đọc kết quả sau 5 phút:

+ Dương tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C

+ Âm tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị bình thường: Âm tính
- Dương tính: sử dụng các loại thuốc có chứa morphin.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Nước tiêu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

194. ĐỊNH LƯỢNG PHOSPHO

I. NGUYÊN LÝ

Phospho vô cơ phản ứng với molybdate tạo phức heteropolyacid. Mật độ quang được đo ở bước sóng vùng tử ngoại (340/380) nm, tỉ lệ thuận với nồng độ phospho trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,...

2.2. Hóa chất

- Sulphuric acid
- Ammoniumheptamolybdate
- Glycine
- Chất bảo quản.

Hóa chất được bảo quản ở 2- 8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ.

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở 2- 8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 - 30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

Bệnh phẩm hòa loãng 1/5 với nước cất; kết quả thu được nhân với độ hòa loãng.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm phospho.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm phosphor theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn phosphor.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm phosphor. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường: 12.9 - 42.0 mmol/24 giờ

2. Phospho nước tiểu tăng trong

- Cường cận giáp
- Thiếu Vitamin D
- Hội chứng Debré-Fanconi
- Ăn nhiều thịt.
- Bất đồng...

3. Phospho nước tiểu giảm trong

- Nhược cận giáp
- Viêm thận mạn.
- Thương hàn, thiếu máu
- Ăn nhiều rau...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8⁰C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

195. ĐỊNH TÍNH PHOSPHO HỮU CƠ

Phospho hữu cơ là chất ức chế mạnh các carboxylic ester hydrolase bao gồm: Acetylcholinesterase và Pseudocholinesterase huyết tương, dẫn đến sự tích tụ các Acetylcholin tại các synap thần kinh. Trên lâm sàng thường gặp 3 hội chứng liên quan đến ngộ độc Phospho hữu cơ: hội chứng Muscarin, hội chứng Nicotin và hội chứng Thần kinh trung ương.

Phospho hữu cơ được hấp thụ vào cơ thể qua đường tiêu hóa, đường hô hấp, đường da và niêm mạc.

I. NGUYÊN LÝ

Định tính Phospho hữu cơ có trong nước tiểu hoặc dịch rửa dạ dày bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Thin Layer Chromatography)

Sắc ký lớp mỏng (TLC) là một kỹ thuật sắc ký được dùng để tách các chất trong hỗn hợp khi cho pha động di chuyển qua pha tĩnh (đã được đặt sẵn hỗn hợp cần tách). Pha tĩnh là một lớp mỏng chất hấp phụ, thường là silica gel, aluminium oxide, hoặc cellulose được phủ trên một mặt phẳng chất trơ. Pha động bao gồm dung dịch cần phân tích được hòa tan trong một dung môi thích hợp và được hút lên bản sắc ký bởi mao dẫn. Trong quá trình di chuyển trên lớp hấp phụ, *các cấu tử trong hỗn hợp phân tích di chuyển trên lớp mỏng, cùng chiều với pha động, với tốc độ khác nhau*. Kết quả ta thu được 1 sắc ký đồ trên lớp mỏng.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sỹ, cử nhân, được đào tạo kỹ thuật định tính Phospho hữu cơ bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC).

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống chạy sắc ký lớp mỏng Nanomat 4 của hãng Camag
- Bình chiết 250 mL
- Đĩa Persi, cốc có mỏ
- Bộ chắm mẫu
- Giấy quỳ

2.2. Hóa chất

- Pha tĩnh: Bản mỏng Silica gel (10 cm × 3 cm).
- Pha động: Dung dịch (nHexan : Aceton) theo tỷ lệ thể tích 4 : 1.

- Dung dịch hiện màu PdCl_2 0,25% / HCl 0,1N.
- Dung môi chiết: Diethyl Ether, còn tuyệt đối.
- Dung dịch H_2SO_4 10%.
- Dung dịch chuẩn : Thường dùng thuốc trừ sâu nhóm lân hữu cơ như Volphatox (Methyl Parathion-MP), Thiophot (Parathion), Dipterex và DDVP (Dichlorvos, Vapona).

3. Người bệnh: Người bệnh khoa Hồi sức cấp cứu nghi ngờ nhiễm độc Phospho hữu cơ.

4. Phiếu xét nghiệm: theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế, phải điền đầy đủ thông tin người bệnh...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm:
 - + Nước tiểu: 50 – 150 mL (tốt nhất 150mL)
 - + Dịch rửa dạ dày: 50 – 150 mL
- Lấy bệnh phẩm cho vào lọ sạch, đậy kín.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Tách chiết mẫu

- Cho vào bình chiết mẫu 50 - 100mL nước tiểu hoặc dịch rửa dạ dày, 20-30mL Diethyl Ether, thêm một vài giọt H_2SO_4 10% (để đảm bảo môi trường là acid, có thể kiểm tra bằng giấy quỳ).

- Lắc trộn đều dung dịch trong bình chiết. Sau đó để yên cho dung dịch phân thành 2 lớp, chiết lấy phần dung dịch phía trên.

- Cho thêm vào bình chiết 1-5mL còn tuyệt đối. Tiếp tục lắc nhẹ và đều dung dịch, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, và chiết lấy phần dung dịch phía trên.

- Cho dung dịch thu được ra đĩa Persi, đun trên bếp để bay hơi bớt dung môi.

2.2. Châm mẫu và chạy sắc ký lớp mỏng

- Đặt bản mỏng trên bàn châm mẫu, cố định bản mỏng bằng nam châm.

- Sử dụng kim châm mẫu để lấy mẫu bệnh và mẫu đối chứng (chuẩn), sau đó tiến hành châm lên bản mỏng. Sau khi châm mẫu xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng khoảng 10 phút (hoặc sấy khô nhiệt độ 40°C khoảng 1 phút).

- Cho dung dịch chạy sắc ký nHexan-Aceton (4:1) vào bình chạy mẫu (lớp dung dịch dày khoảng 1-5mm), đặt bản mỏng mới châm vào bình và đậy nắp bình lại.

* Lưu ý: phân chấm mẫu đặt phía dưới, tiếp xúc với dung môi chạy. Điểm chấm mẫu cách mặt dung môi khoảng 0,5-1cm.

- Chờ cho dung môi chạy gần hết chiều dài của bản mỏng (cách mép trên khoảng 1cm), lấy bản mỏng ra và để khô ở nhiệt độ phòng (hoặc sấy khô).

- Sử dụng thuốc hiện màu PdCl_2 0,25% / HCl 0,1N phun đều lên bản mỏng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

So sánh vết màu tạo ra trên bản mỏng (vết mẫu bệnh và vết mẫu chuẩn):

- Dương tính: trên bản mỏng xuất hiện 2 vết có cùng màu vàng cam trên nền trắng và R_f của mẫu thử tương đương với R_f của mẫu chuẩn thì kết luận là có Phospho hữu cơ trong mẫu thử.

R_f : hệ số di chuyển, được tính bằng tỷ lệ giữa khoảng dịch chuyển của chất thử và khoảng dịch chuyển của dung môi

Công thức tính:
$$R_f = \frac{a}{b}$$

Trong đó:

a (cm): khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết mẫu thử.

b (cm): khoảng cách từ điểm xuất phát đến mức dung môi đo trên cùng đường đi của vết.

R_f : Chỉ có giá trị từ 0 đến 1.

- Âm tính: Trên bản mỏng chỉ xuất hiện 1 vết màu vàng cam của mẫu chuẩn thì kết luận không có Phospho hữu cơ trong bệnh phẩm.

V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Kết quả âm tính giả

Nguyên nhân:

- Quá trình tách chiết chất cần phân tích chưa đúng
- Chất cần phân tích bị biến đổi trong quá trình tách chiết, đặc biệt là bước đuổi dung môi trên bếp.
- Chất cần phân tích bị rơi bớt theo phần dung môi cần loại bỏ

Cách xử trí: Tiến hành làm lại xét nghiệm một cách cẩn trọng

2. Kết quả không xuất hiện vết màu cam trên bản mỏng

Nguyên nhân:

- Dung dịch hiện màu bị hỏng

- Dung dịch chuẩn bị hỏng

Cách xử trí: Thay các dung dịch bị hỏng

3. Dương tính giả

Nguyên nhân: Xử lý mẫu chưa đạt, còn tạp chất trong mẫu thử

Cách xử trí: Tiến hành xử lý mẫu lại, cẩn thận hơn. Xem lại dung dịch pha động.

196. ĐỊNH TÍNH PORPHYRIN

I. NGUYÊN LÝ

Porphyrin trong môi trường acid Clohydric tạo phức chất có màu hồng.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Hóa chất:

- Acid acetic
- Ether
- Acid HCl 20%

Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30⁰C.

3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

Nước tiểu, bảo quản ở 2 - 8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 - 30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cho vào bình gạn:
 - + Nước tiểu : 40 ml
 - + Acid acetic : 5 ml
 - + Ether : 10ml
- Lắc đều, để yên 30 phút, gạn bỏ phần nước tiểu giữ lại phần ether ở trên.
- Thêm HCL 20%: 2 ml, lắc đều.
- Để 1 giờ
- Đọc kết quả ở phần dưới:
 - + Có màu hồng thẫm: dương tính
 - + Có màu hồng nhạt: Bình thường
 - + Không có màu: Âm tính
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: Bình thường
- Phản ứng Porphyrin dương tính trong: Đái ra porphyrin

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Đảm bảo đúng quy trình kỹ thuật.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

197. ĐIỆN DI PROTEIN

I. NGUYÊN LÝ

Dùng dòng điện 1 chiều để dịch chuyển các phân tử protein trên môi trường gel dựa trên lực Lorenz. Những phân tử khác nhau sẽ dịch chuyển với tốc độ khác nhau mà ta có thể quan sát được trên điện di đồ. Tốc độ di chuyển này được quyết định bởi 3 yếu tố: điện tích, kích thước và khối lượng phân tử. (xem chi tiết nguyên lý ở phần điện di protein trong huyết thanh).

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Máy điện di tự động

Hóa chất:

Hóa chất được bảo quản ở 2-8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích của xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Huyết thanh

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di protein.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm điện di protein theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn điện di protein.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di protein. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh
-

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường

- Total protein: 64.0 - 83.0 g/L
- Albumin: 35.0 - 50.0 g/L
- Alpha-1 globulin: 1.0 - 3.0 g/L
- Alpha-2 globulin: 6.0 - 10.0 g/L
- Beta globulin: 7.0 - 12.0 g/L
- Gamma globulin: 7.0 - 16.0 g/L

2. Điện di protein thay đổi trong

- Bệnh đa u tủy xương (Kahler): là xét nghiệm chính để chẩn đoán do nó có thể định lượng kháng thể bất thường đặc trưng trong máu. Những biến chứng của bệnh này là: suy thận, thiếu máu, tăng canxi máu.
- Viêm gan cấp, xơ gan: Gamma Globulin tăng; Albumin giảm.
- Hội chứng thận hư đơn thuần: α_2 Globulin, β Globulin máu tăng; γ Globulin máu giảm.
- Không đơn thuần: cả 3 đều tăng
- Lao phổi: α_2 Globulin, γ Globulin tăng

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Mẫu máu phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, không có chứa chất chống đông, bảo quản ở 2-8⁰C.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

198. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN

I. NGUYÊN LÝ

Đo quang so màu: phức hợp pyrogallol đỏ - molybdate gắn với nhóm amino của phân tử protein tạo thành phức chất màu xanh tím có mật độ quang cực đại ở bước sóng 600nm. Mật độ quang tỉ lệ với nồng độ protein trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

2.2. Hóa chất

- Sodium molybdate
- Succinic acid
- Sodium benzoate
- Sodium oxalate
- Methanol

Hóa chất được bảo quản ở 2 - 8⁰C, tránh ánh sáng trực tiếp. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh:

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm:

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH:

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ.

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở 2 - 8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25-30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm protein.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm protein theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn protein.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm protein. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho

người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng nước tiểu và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: Âm tính
- Protein nước tiểu tăng trong:
 - + Các bệnh thận: suy thận, hội chứng thận hư, viêm cầu thận...
 - + Nhiễm độc thai nghén.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8⁰C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

199. ĐỊNH TÍNH PROTEIN BENCE-JONES

I. NGUYÊN LÝ

Protein nhiệt tan (chuỗi nhẹ: Lamđã hoặc Kappa), kết tủa ở nhiệt độ 50-60⁰C và tan khi sôi.

I. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Hóa chất:

- NaCL 0,9%
- Acid acetic 1/10
- Giấy quỳ
- Giấy lọc
- Đèn cồn
- Ống nghiệm

Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30⁰C.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được tư vấn trước khi làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

II. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Đun sôi và lọc để loại protein thật
- Điều chỉnh pH bằng acetic 1/10 cho chuyển màu đỏ với giấy quỳ.
- Lấy 2 ml nước tiểu và 2 ml NaCL 0,9% cho vào ống nghiệm, trộn đều đun nóng ống nghiệm trên ngọn lửa đèn cồn rồi quan sát:
 - + Protein Bence Jones xuất hiện khi nhiệt độ đạt tới 60⁰C, dung dịch trong ống nghiệm xuất hiện tủa trắng và tủa đó tan ra nếu tiếp tục đun sôi. Tủa lại xuất hiện khi dung dịch trong ống nghiệm được làm lạnh.
 - + Nếu không thấy có hiện tượng trên là không có protein Bence Jones.
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- **Trị số bình thường: Âm tính**
- **Proten Bence-Jones dương tính trong**
Đa u tủy xương (Kahler)

IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Phải loại trừ protein thật bằng cách đun sôi rồi lọc.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

200. ĐỊNH TÍNH ROTUNDIN (ROTUNDA)

Rotundin (L-Tetrahydropalamin; Biệt dược: Rotunda, Roxen, Stilux) là Alcaloid chính trong củ cây bình vôi. Rotundin có tác dụng an thần, giảm đau, gây ngủ. Khi quá liều có thể gây ra ức chế thần kinh trung ương, ngủ gà, giảm trương lực, hôn mê, nhịp tim chậm, hạ huyết áp, ngừng thở (đặc biệt là ở trẻ em), có thể gây viêm gan khi điều trị Rotundin kéo dài.

Rotundin được hấp thụ vào cơ thể qua đường tiêu hóa (đường uống).

I. NGUYÊN LÝ

Định tính Rotunda có trong nước tiểu hoặc dịch rửa dạ dày bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Thin Layer Chromatography).

Sắc ký lớp mỏng (TLC) là một kỹ thuật sắc ký được dùng để tách các chất trong hỗn hợp khi cho pha động di chuyển qua pha tĩnh (đã được đặt sẵn hỗn hợp cần tách). Pha tĩnh là một lớp mỏng chất hấp phụ, thường là silica gel, aluminium oxide, hoặc cellulose được phủ trên một mặt phẳng chất trơ. Pha động bao gồm dung dịch cần phân tích được hòa tan trong một dung môi thích hợp và được hút lên bản sắc ký bởi mao dẫn. Trong quá trình di chuyển trên lớp hấp phụ, *các cấu tử trong hỗn hợp phân tích di chuyển trên lớp mỏng, cùng chiều với pha động, với tốc độ khác nhau*. Kết quả ta thu được 1 sắc ký đồ trên lớp mỏng.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: Bác sỹ, cử nhân được đào tạo kỹ thuật định tính Rotunda bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC).

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Phương tiện

- Hệ thống chạy sắc ký lớp mỏng
- Bình chiết 250 mL
- Đĩa Persi, cốc có mỏ
- Bộ chấm mẫu (Nanommat 4 của hãng Camag)
- Giấy quỳ

2.2. Hóa chất

- Pha tĩnh: Bản mỏng Silica gel (10 cm × 3 cm)
- Pha động: hỗn hợp dung dịch (Toluen : Aceton : Ethanol : NH₄OH) theo tỷ lệ thể tích (45 : 45 : 7 : 3)
- Dung dịch *hiện màu Dragendorff*

Cách pha:

| | |
|---|--|
| Dung dịch 1: Bi (NO ₃) ₂ : 0,85g CH ₃ COOH : 10mL Nước cất : 40 mL | Dung dịch 2: KI : 8g Nước cất : 20mL |
|---|--|

Hòa tan dung dịch 1 và 2 theo thể tích bằng nhau.

Dung dịch sử dụng: 10mL hỗn hợp + 100mL nước cất + 20mL CH₃COOH

- Dung môi chiết: Diethyl Ether, còn tuyệt đối
- Dung dịch NH₄OH 10%
- Dung dịch chuẩn Rotunda

3. Người bệnh: Người bệnh khoa HSCC nghi ngờ bị nhiễm độc Rotunda

4. Phiếu xét nghiệm: theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế, phải điền đầy đủ thông tin người bệnh....

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm:
 - + Nước tiểu: 50 – 150 mL (tốt nhất 150 mL)
 - + Dịch rửa dạ dày: 50 – 150 mL
- Lấy bệnh phẩm cho vào lọ sạch, đậy kín.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Tách chiết mẫu

- Cho vào bình chiết mẫu 50 - 100mL nước tiểu hoặc dịch rửa dạ dày, 20-30mL Diethyl Ether, thêm một vài giọt NH₄OH 10% (để đảm bảo môi trường là kiềm, có thể kiểm tra bằng giấy quỳ).

- Lắc trộn đều dung dịch trong bình chiết. Sau đó để yên cho dung dịch phân thành 2 lớp, chiết lấy phần dung dịch phía trên.

- Cho thêm vào bình chiết 1 - 5mL cồn tuyệt đối. Tiếp tục lắc nhẹ và đều dung dịch, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, và chiết lấy phần dung dịch phía trên.

- Cho dung dịch thu được ra đĩa Persi, đun trên bếp để bay hơi bớt dung môi.

2.2. Châm mẫu và chạy sắc ký lớp mỏng

- Đặt bản mỏng trên bàn châm mẫu, cố định bản mỏng bằng nam châm.

- Sử dụng kim chấm mẫu để lấy mẫu bệnh và mẫu đối chứng (chuẩn), sau đó tiến hành chấm lên bản mỏng. Sau khi chấm mẫu xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng (hoặc sấy khô).

- Cho dung dịch chạy sắc ký (Toluen : Aceton : Ethanol : NH_4OH) vào bình chạy mẫu (lớp dung dịch dày khoảng 1 - 5mm), đặt bản mỏng mới chấm vào bình và đậy nắp bình lại

* *Lưu ý: phần chấm mẫu đặt phía dưới, tiếp xúc với dung môi chạy. Điểm chấm mẫu cách mặt dung môi khoảng 0,5-1cm.*

- Chờ cho dung môi chạy gần hết chiều dài của bản mỏng (cách mép trên khoảng 1cm), lấy bản mỏng ra và để khô ở nhiệt độ phòng (hoặc sấy khô).

- Sử dụng thuốc hiện màu Dragendorff phun đều lên bản mỏng.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

So sánh vết màu tạo ra trên bản mỏng (vết mẫu bệnh và vết mẫu chuẩn):

- Dương tính: trên bản mỏng xuất hiện 2 vết có cùng màu vàng cam trên nền trắng và R_f của mẫu thử tương đương với R_f của mẫu chuẩn thì kết luận là có Rotunda trong mẫu thử.

R_f : hệ số di chuyển, được tính bằng tỷ lệ giữa khoảng dịch chuyển của chất thử và khoảng dịch chuyển của dung môi

Công thức tính:
$$R_f = \frac{a}{b}$$

Trong đó:

a (cm): khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết mẫu thử.

b (cm): khoảng cách từ điểm xuất phát đến mức dung môi đo trên cùng đường đi của vết.

R_f : Chỉ có giá trị từ 0 đến 1.

- Âm tính: Trên bản mỏng chỉ xuất hiện 1 vết màu vàng cam của mẫu chuẩn thì kết luận không có Rotunda trong mẫu thử.

V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Kết quả âm tính giả

Nguyên nhân:

- Quá trình tách chiết chất cần phân tích chưa đúng

- Chất cần phân tích bị biến đổi trong quá trình tách chiết, đặc biệt là bước đuổi dung môi trên bếp.

- Chất cần phân tích bị rơi bót theo phần dung môi cần loại bỏ

Cách xử trí: Tiến hành làm lại xét nghiệm một cách cẩn trọng

2. Kết quả không xuất hiện vết màu cam trên bản mỏng

Nguyên nhân:

- Dung dịch hiện màu bị hỏng

- Dung dịch chuẩn bị hỏng

Cách xử trí: Thay các dung dịch bị hỏng

3. Dương tính giả

Nguyên nhân: Xử lý mẫu chưa đạt, còn tạp chất trong mẫu thử

Cách xử trí: Tiến hành xử lý mẫu lại, cẩn thận hơn. Xem lại dung dịch pha động

201. ĐỊNH LƯỢNG THC (CANABIONIDS)

I. NGUYÊN LÝ

THC (Δ^9 -Tetrahydrocannabinol là hoạt chất chính của cần sa) được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn β galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng THC nó tác động lên THC tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, THC trong mẫu cạnh tranh với THC liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của β Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu THC có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu THC không có mặt trong mẫu thử. THC liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ β Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động. Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ THC trong mẫu thử

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm THC, chất chuẩn THC, chất kiểm tra chất lượng THC.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy nước tiểu để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Lấy nước tiểu vào dụng cụ sạch (thủy tinh hoặc nhựa). Mẫu nước tiểu đục phải ly tâm trước khi phân tích.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm THC. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm THC. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm THC đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm THC trong nước tiểu sử dụng cut-off là 25 ng/mL.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 40 mg/dL.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1100 mg/dL.
- 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 kết quả)

202. ĐỊNH LƯỢNG URE

I. NGUYÊN LÝ

Ure bị thủy phân dưới tác dụng của enzyme urease tạo ammonia; ammonia tác dụng với 2-oxoglutarat và NADH dưới tác dụng của GLDH tạo NAD^+ . Sự giảm mật độ quang của NADH theo thời gian tỉ lệ với nồng độ ure trong mẫu bệnh phẩm ở bước sóng 340 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

2.2. Hóa chất

- Urease
- NADH
- GLDH
- 2-oxoglutarat
- Chất bảo quản

Hóa chất được bảo quản ở 2 - 8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ.

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở 2 - 8⁰C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 - 30⁰C, ổn định trong vòng 2 ngày.

Bệnh phẩm hòa loãng 1/10 với nước cất; kết quả thu được nhân với độ hòa loãng.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm ure.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm ure theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn ure.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm ure. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người

bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường: 166 - 581 mmol/24giờ

2. Ure nước tiểu tăng trong

- Bệnh thận.
- Sốt cao.
- Tiểu đường.
- Một số bệnh gan.
- Nhiễm độc (Phospho, Antimoon, Asen...)

3. Ure nước tiểu giảm trong

- Bệnh gan (vàng da nặng, xơ gan phì đại, ung thư...)
- Suy thận mạn, Viêm thận nhiễm độc (Chì, Thủy ngân...).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8⁰C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

203. TỔNG PHÂN TÍCH NƯỚC TIỂU (Bằng máy tự động)

I. NGUYÊN LÝ

10 thông số hoá sinh nước tiểu được bán định lượng bằng thanh giấy thử sử dụng kỹ thuật đo phản quang. Riêng xét nghiệm tỷ trọng nếu thực hiện trên máy Urisys 2400 thì được đo bằng khúc xạ kế và kết quả có giá trị định lượng.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích nước tiểu tự động: Urisys 2400, Siegmen, ...

2.2. Hóa chất

Urisys 2400 cassette

Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30⁰C.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu

Nước tiểu (tốt nhất lấy vào buổi sáng), bảo quản ở 2 - 8⁰C.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Với máy tự động :
 - + Bệnh phẩm được phân tích trên máy phân tích tự động Urisys 2400 theo chương trình của máy.
- Với máy bán tự động
 - + Nhúng ướt toàn bộ thanh thử vào nước tiểu.
 - + Đặt thanh thử vào khay đựng test.
 - + Nhấn nút Start. Máy sẽ tự phân tích và in ra kết quả.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Tỷ trọng

Bình thường tỷ trọng nước tiểu vào khoảng 1,014 - 1,028. Tỷ trọng tăng trong bệnh ĐTĐ, giảm trong bệnh đái tháo nhạt. Tỷ trọng thấp kéo dài cũng thường gặp trong suy thận.

2. pH

- Bình thường pH từ 5 - 6.
- pH axit: Đái tháo đường không kiểm soát, mất nước, đói lả.
- pH kiềm: nhiễm khuẩn tiết niệu

3. Các chất ceton

Bình thường không có các chất ceton trong nước tiểu. Khi chúng xuất hiện thì có thể người bệnh mắc bệnh đái đường có biến chứng toan ceto, người bệnh nhịn đói lâu ngày, nôn mửa kéo dài, trong một vài trường hợp ngộ độc.

4. Máu

- Bình thường không có hồng cầu trong nước tiểu.
- Dương tính và hồng cầu còn nguyên: Sỏi thận, lao thận, ung thư thận, viêm thận.
- Dương tính và hồng cầu đã vỡ: tan máu như sốt rét, vàng da do tan máu, ngộ độc photpho...

5. Bilirubin (Sắc tố mật)

- Bình thường Bilirubin không có mật trong nước tiểu.
- Dương tính: có tổn thương của gan hoặc đường dẫn mật.

6. Urobilinogen

- Bình thường có ít trong nước tiểu.
- Tăng: bệnh gan hoặc tan huyết
- Nếu tắc mật hoàn toàn thì không có Urobilinogen trong nước tiểu.

7. Protein niệu

- Bình thường nước tiểu có chứa một lượng nhỏ Protein không đủ tạo ra phản ứng dương tính trên giấy thử.
- Dương tính: bệnh thận, nhiễm trùng tiết niệu, THA, ngộ độc thai nghén, suy tim xung huyết.

8. Đường niệu

- Bình thường không có Glucose trong nước tiểu.
- Dương tính: ĐTĐ, Stress, Viêm tụy cấp, Cushing, sau gây mê...

9. Nitrit

- Bình thường không có trong nước tiểu
- Dương tính: nhiễm trùng tiết niệu

10. Bạch cầu

Dương tính: nhiễm trùng bàng quang hay thận.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

C. DỊCH NÃO TỦY

204. ĐỊNH LƯỢNG CLO

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng Clo dịch não tủy bằng phương pháp điện cực chọn lọc.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,...

2.2. Hóa chất

- Điện cực chuẩn

- Điện cực Clo.

Hóa chất được bảo quản ở 25- 30⁰C.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Dịch não tủy. Dịch não tủy; bảo quản ở 2 – 8⁰C.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm Clo.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

IV. Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm Clo theo chương trình của máy.

1. Tiến hành chuẩn Clo.

2. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm Clo. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

3. Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng dịch não tủy và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.

4. Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
5. Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

V. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu

Clo: 120-130 mmol/L

2. Tăng bệnh lý

Một số bệnh thần kinh trung ương, các trường hợp có Clorua huyết tương tăng.

3. Giảm bệnh lý

Viêm màng não, động kinh

VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Dịch não tủy của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

205. ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE

I. NGUYÊN LÝ

Enzym UV (phương pháp hexokinase): Glucose bị phosphoryl hóa bởi ATP dưới tác dụng của enzyme hexokinase tạo glucose-6-phosphat. Glucose-6-phosphat phản ứng với NAD dưới tác dụng của glucose-6-phosphat dehydrogenase tạo gluconate-6-phosphat và NADH+H⁺. Sự tăng mật độ quang được đo ở bước sóng 340 nm tỉ lệ với nồng độ glucose dịch não tủy trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Máy phân tích sinh hóa tự động: MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

Hóa chất:

- ATP
- NAD⁺
- Hexokinase
- G6P-DH
- Chất bảo quản
- Hóa chất được bảo quản ở 2-8⁰C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Dịch não tủy. Dịch não tủy, bảo quản ở 2- 8⁰C.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm glucose dịch não tủy.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm glucose dịch não tủy theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn glucose dịch não tủy.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm glucose dịch não tủy. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng dịch và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu: 2,2 -3,9 mmol/L.

2. Glucose dịch não tủy tăng trong

- Đái tháo đường
- Viêm não, các u não, xuất huyết não
- Động kinh, co giật

3. Glucose dịch não tủy giảm trong

- Viêm màng não mủ do màng não cầu khuẩn, phế cầu khuẩn, liên cầu khuẩn.
- Viêm màng não do lao.
- Hạ đường máu

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

- Dịch não tủy của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.
- Mẫu bệnh phẩm phải được phân tích sớm ngay sau khi lấy mẫu.
- Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; Nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

206. PHẢN ỨNG PANDY

I. NGUYÊN LÝ

Globulin phân tử lớn (globulin miễn dịch) bị kết tủa bởi dung dịch phenol bão hòa

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Hóa chất

- Dung dịch phenol bão hòa
- Hóa chất được bảo quản ở 25 - 30⁰C.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Dịch não tủy.
- Dịch não tủy, bảo quản ở 2 - 8⁰C.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất phenol bão hòa.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cho vào ống nghiệm 1 ml Phenol bão hòa, dùng pipet hút DNT và nhỏ vào ống nghiệm 1 giọt:
- Nếu hỗn hợp dịch não tủy - phenol vẫn giữ nguyên màu trong suốt thì kết quả âm tính.
- Nếu có hiện tượng tủa khối trắng thì có kết quả dương tính.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường: Âm tính

2. Phản ứng Pandy dương tính trong

- Có rối loạn hàng rào máu - não nặng nề (viêm màng não vi khuẩn, viêm màng não lao, hội chứng Guillain - Berré, u tủy, u góc cầu tiểu não);
- Rối loạn hàng rào máu - não mức độ vừa kèm theo tình trạng tăng - globulin trong máu (trong thoát vị đĩa đệm, bệnh Waldestrom).

- Tăng tổng hợp globulin miễn dịch trong khoang dịch não tủy (trong liệt tiền triền, đa lymphome màng não).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Dịch não tủy của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Dung dịch phenol bão hòa phải được pha đúng theo tiêu chuẩn, trong suốt, không bị vẩn đục.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; Nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

207. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN

I. NGUYÊN LÝ

Phức hợp pyrogallol đỏ - molybdate gắn với nhóm amino của phân tử protein dịch não tủy tạo thành phức chất màu xanh tím có mật độ quang cực đại ở bước sóng 600nm. Mật độ quang tỉ lệ với nồng độ protein dịch não tủy trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

2.2. Hóa chất

- Sodium molybdate
- Succinic acid
- Sodium benzoate
- Sodium oxalate
- Methanol

Hóa chất được bảo quản ở 2-8⁰C, tránh ánh sáng trực tiếp. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Dịch não tủy, dịch chọc dò. Dịch não tủy, dịch chọc dò, bảo quản ở 2 - 8⁰C.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm protein dịch não tủy.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm protein dịch não tủy theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn protein dịch não tủy.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm protein dịch não tủy. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng dịch và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: < 0.45 g/L

- Protein dịch não tủy tăng trong

- + Viêm màng não, lao màng não
- + Hội chứng Guillain-Barre’.
- + Chèn ép tủy sống

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Dịch não tủy, dịch chọc dò của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; Nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

D. THỦY DỊCH MẮT

208. ĐỊNH LƯỢNG ALBUMIN

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng Albumin trong thủy dịch theo phương pháp so màu

pH= 4.1

Albumin + BCG => Albumin BCG complex

Phức hợp Albumin BCG có màu xanh tỷ lệ thuận với nồng độ Albumin trong mẫu thử được đo ở bước sóng 570 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Albumin, chất chuẩn Albumin, chất kiểm tra chất lượng Albumin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy thủy dịch để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy thủy dịch vào ống không có chất chống đông

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Albumin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Albumin.

Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Albumin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: Hầu như không có Albumin trong thủy dịch mắt
- Khi xuất hiện Albumin là có bệnh lý về viêm nhiễm....

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

209. ĐỊNH LƯỢNG GLOBULIN

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng Globulin trong thủy dịch bằng cách tính toán dựa trên thông số về định lượng Protein toàn phần và Albumin.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Protein toàn phần và Albumin, chất chuẩn Protein toàn phần và Albumin, chất kiểm tra chất lượng Protein toàn phần và Albumin.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy thủy dịch để làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Lấy thủy dịch vào ống không có chất chống đông

2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Protein và Albumin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Protein toàn phần và Albumin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Protein toàn phần và Albumin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đọc máy phân tích mẫu theo chương trình của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh. Kết quả nếu không được máy tự động tính toán thì tính theo công thức sau:

Globulin = Protein toàn phần - Albumin

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: Hầu như không có globulin trong thủy dịch mắt

- Khi có globulin là có bệnh lý viêm nhiễm xảy ra như viêm mống mắt, viêm màng bồ đào...

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Là những sai sót có thể gặp phải khi định lượng Protein toàn phần và Albumin

E. DỊCH CHỌC DỒ (Dịch màng bụng, màng phổi, màng tim....)

210. ĐO HOẠT ĐỘ AMYLASE

I. NGUYÊN LÝ

Amylase thủy phân 2-chloro-4-nitrophenyl-maltotriosid (CNPG₃) thành 2-chloro-4-nitrophenol (CNP), 2-chloro-4-nitrophenyl-maltodiosid và glucose (G):

Amylase



Sự giải phóng của CNP từ cơ chất và sự tăng độ hấp thụ ở bước sóng 415 nm của nó tỷ lệ thuận với hoạt độ Amylase trong mẫu thử.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành xét nghiệm hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...

Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).

Kit thuốc thử amylase (hãng Becman coulter)

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Xác định hoạt độ Amylase trong dịch

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng Amylase các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

2. Tiến hành kỹ thuật

Cho vào 3 ống nghiệm

| | Ống trắng | Ống chuẩn | Ống thử |
|------------------|------------------|------------------|----------------|
| Thuốc thử | 1 ml | 1 ml | 1 ml |
| Nước cất | 10 µl | | |
| Chuẩn | | 10 µl | |
| Mẫu thử | | | 10 µl |

Lắc đều, ủ 37⁰C trong 5 phút hoặc 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang học ở bước sóng 340 nm so với ống chuẩn để tính kết quả.

Tính kết quả: Nồng độ ống mẫu :

$$C_U = OD_U / OD_S * C_S \text{ (U/l)}$$

OD_U là mật độ hấp thu của ống mẫu

OD_S là mật độ hấp thu của ống chuẩn

C_U là hoạt độ Amylase mẫu

C_S là hoạt độ Amylase chuẩn

Chú ý: Có thể tiến hành trên máy bán tự động Stat Fax đã cài đặt chương trình như trên. Khi làm, đo mật độ quang của ống trắng trước. Sau đó đưa vào ống chuẩn máy sẽ tự động đo và tính ra hệ số. Tiếp đó đưa theo thứ tự các ống thử vào máy sẽ tự động đo và tính ra kết quả hiện trên máy hoặc in ra giấy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham khảo: Chưa có giá trị tham khảo hoạt độ amylase trong dịch

- Hoạt độ amylase huyết thanh: < 220 U/l

- Hoạt độ amylase nước tiểu: < 1000 U/l

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

211. ĐỊNH LƯỢNG NỒNG ĐỘ BILIRUBIN TOÀN PHẦN VÀ TRỰC TIẾP

I. NGUYÊN LÝ

Bilirubin trong dịch chọc dò kết hợp với thuốc thử diazo (acid sulfanilic được diazo hóa) tạo thành phức hợp azobilirubin có màu hồng. Để định lượng bilirubin toàn phần, dùng cafein để tách bilirubin gián tiếp ra khỏi albumin.

Thuốc thử diazo trên có thể gây kết tủa protein làm ảnh hưởng đến mật độ quang. Cho nên, ngày nay người ta có thể thay bằng 2,4 - diClooanilin được diazo hóa hoặc 2,5-dichlorophenyl diazonium tetrafluoroborat (DPD).

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành xét nghiệm hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Thuốc thử Erhlich I.
- Thuốc thử Erhlich II.
- Dung dịch NaNO_2 0,5%.
- Acid HCl 1,5%.
- Thuốc thử diazo pha trước khi dùng.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc cần thiết làm xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ Bilirubin toàn phần hoặc trực tiếp.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng Bilirubin các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

2. Tiến hành kỹ thuật

Cho vào 4 ống nghiệm loại 10 ml:

| | Ống chuẩn | Bilirubin toàn phần | | Bilirubin trực tiếp | |
|-----------------|-----------|---------------------|---------|---------------------|---------|
| | | Ống trắng | Ống thử | Ống trắng | Ống thử |
| Bệnh phẩm | - | 0,25 ml | 0,25 ml | 0,25 ml | 0,25 ml |
| Nước cất | 1,5 ml | 1,5 ml | 1,5 ml | 2,0 ml | 2,0 ml |
| Dung dịch chuẩn | 0,25 ml | - | - | - | - |
| Erhlich I | 0,5 ml | 0,5 ml | 0,5 ml | - | - |
| Thuốc thử diazo | 0,25 ml | - | 0,25 ml | - | 0,25 ml |
| HClO 1,5% | - | 0,25 ml | - | 0,25 ml | - |

Lắc đều để yên 6 - 10 phút, đo màu ở bước sóng 546 nm.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

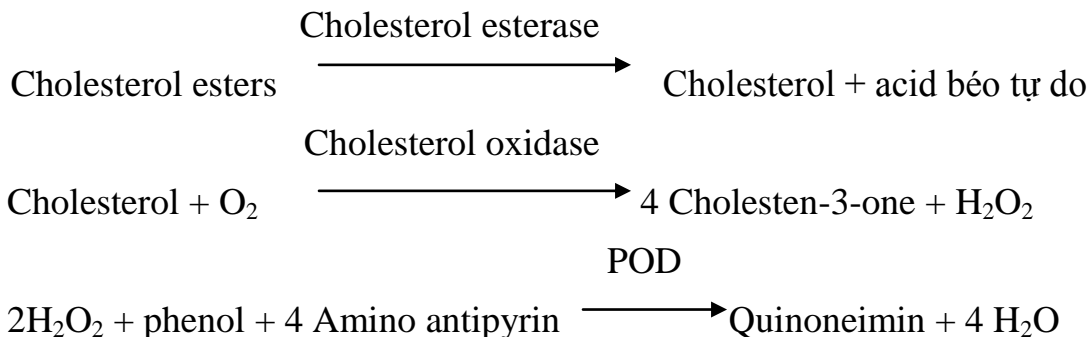
Bình thường không có bilirubin trong các dịch chọc dò. Khi xuất hiện có thể nghĩ đến hội chứng vàng da.

VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

212. ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN

I. NGUYÊN LÝ

Cholesterol ester có trong dịch chọc dò được chuyển thành cholesteron và H₂O₂ do các enzym cholesterol esterase xúc tác. Sau đó cholesteron bị oxy hoá tạo thành H₂O₂ và cholestentrione. H₂O₂ kết hợp với chất hiện màu nhờ tác dụng của enzym peroxidase để chuyển thành hợp chất có màu đỉnh hấp thụ cực đại ở 532 nm.



II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...

Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).

Kit của hãng Beckman coulter.

R1: Buffer (dung dịch đệm)

Phosphate buffer (pH = 6.5), Chloro - 4 - phenol

Sodium Cholate, Triton

R2: Enzyme

Cholesterol oxydase (CO)

Cholesterol esterase (CE)

Peroxidase (POD)

4 - amino - antipyrin (PAP)

R3: Standard

Cholesterol 200 mg/dL (5,17 mmol/l).

3. Người bệnh

Người bệnh cần được tư vấn trước khi làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ cholesterol.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Dịch chọc dò

2. Tiến hành kỹ thuật

Cho vào 3 ống nghiệm

| | Ống trắng | Ống chuẩn | Ống thử |
|-------------------|------------|------------|------------|
| Thuốc thử | 1 ml | 1 ml | 1 ml |
| Nước cất | 10 μ l | | |
| Chuẩn Cholesterol | | 10 μ l | |
| Mẫu thử | | | 10 μ l |

Lắc đều, ủ 37°C trong 5 phút hoặc 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang học ở bước sóng = 500 nm (480 – 520 nm) so với ống chuẩn để tính kết quả.

Tính kết quả: Nồng độ ống mẫu :

$$C_U = OD_U / OD_S * C_S \text{ (mg/dL hoặc mmol/l)}$$

OD_U là mật độ hấp thu của ống mẫu

OD_S là mật độ hấp thu của ống chuẩn

C_U là nồng độ Cholesterol mẫu

C_S là nồng độ Cholesterol chuẩn

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường không có cholesterol toàn phần trong dịch chọc dò

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

213. ĐỊNH LƯỢNG CREATININ

I. NGUYÊN LÝ

Creatinin tác dụng với acid picric trong môi trường kiềm tạo thành phức hợp picratcreatinin (có màu vàng da cam). Cường độ màu tỷ lệ thuận với nồng độ creatinin. Đo mật độ quang học, so với mẫu chuẩn để tính toán kết quả.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...
- Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).
- Huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần.
- Nước tiểu pha loãng 50 (1+49) lần bằng nước cất.
- Các dung dịch creatinin chuẩn, có nồng độ 177, 354, 530, 707 $\mu\text{mol/l}$.
- Dung dịch Na-tungstat 10%.
- Dung dịch H_2SO_4 . 2/3N.
- Dung dịch Picrat-kiềm: chỉ pha khi dùng

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc cần thiết phải làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ creatinin.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng creatinin các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

2. Tiến hành kỹ thuật

- *Đối với dịch màng bụng, dịch chọc dò có nồng độ protein >30g/l.*

+ *Khử tạp*: cho vào 2 ống nghiệm nhỏ:

| Thuốc thử | Ống chuẩn (S) | Ống thử (S) |
|--|---------------|-------------|
| Nước cất | 3,5 ml | 3,5 ml |
| D.d. creatinin chuẩn 177 $\mu\text{mol/l}$ | 0,5 ml | 0 ml |
| Huyết thanh | 0 ml | 0,5 ml |
| D.d. Na-tungstat 10% | 0,5 ml | 0,5 ml |
| D.d. H_2SO_4 2/3N | 0,5 ml | 0,5 ml |

Trộn đều. Ly tâm 3000 vòng trong 5 phút. Lấy dịch trong.

+ *Phản ứng*: Cho vào 3 ống nghiệm to:

| Thuốc thử | Ống trắng (B) | Ống chuẩn (S) | Ống thử (T) |
|--------------------------|---------------|---------------|-------------|
| Nước cất | 2 ml | 0 ml | 0 ml |
| Dịch trong của ống chuẩn | 0 ml | 2 ml | 0 ml |
| Dịch trong của ống thử | 0 ml | 0 ml | 2 ml |
| D.d. Picrat-kiềm | 1 ml | 1 ml | 1 ml |

Trộn đều. Để yên 20 phút.

Đo quang ở bước sóng 520 nm, đối chiếu với ống trắng, được mật độ quang học của ống chuẩn (Es) và của ống thử (ET).

Tính kết quả theo công thức:

$$\text{Nồng độ creatinin } (\mu\text{mol/l}) = \frac{E_T}{E_S} \cdot C_s$$

Giá trị tham khảo: Bình thường không có creatinin trong dịch chọc dò

3. Cách pha thuốc thử

- Na-tungstat 10%:

Cân 100 g Na-tungstat, Na_2WO_4 , cho vào bình định mức 1 lít đã có sẵn khoảng 800 ml nước cất. Hoà tan và hoàn thành 1 lít bằng nước cất. Trộn đều.

- H_2SO_4 . 2/3N:

Cho từ từ 19 ml H_2SO_4 p.a đậm đặc vào bình định mức 1 lít đã có khoảng 700 ml nước cất. Hoàn thành 1 lít bằng nước cất và trộn đều. Chuẩn độ lại bằng NaOH 1N với chỉ thị phenophtalein. Nếu quá acid thì điều chỉnh bằng pha loãng. Chú ý: lấy H_2SO_4 phải chính xác và thận trọng.

- D.d. acid picric bão hoà:

Đun đến sôi 1 lít nước cất trong một bình nón hoặc cốc có mỏ. Ngừng đun và cho thêm 11,75 g acid picric; để nguội đến nhiệt độ phòng; lọc. Đựng trong chai thủy tinh màu nâu có nút.

Chú ý: Pha dung dịch ở chỗ xa ngọn lửa để đề phòng acid picric cháy và gây nổ.

- D.d. NaOH 10%:

Cho 100 g NaOH vào bình định mức đã có khoảng 800 ml nước cất. Hoà tan. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Hoàn thành 1 lít bằng nước cất và trộn đều.

- Dung dịch Pirat-Kiểm: Pha khi dùng

D.d. acid picric bão hoà 5 thể tích.

D.d. NaOH 10%: 1 thể tích.

Trộn đều.

- D.d. HClO 0,1N:

Cho từ từ 8,4 ml HClO p.a đậm đặc vào bình định mức đã có khoảng 700ml nước cất. Hoàn thành 1 lít bằng nước cất và trộn đều.

- D.d. creatinin chuẩn gốc 1mg/ml (8850 μ mol/l):

Cho 100 mg creatinin p.a vào bình định mức 100 ml. Hoà tan và hoàn thành 100 ml bằng D.d. HClO 0,1N. Đựng trong chai nhựa.

- Các Dung dịch creatinin chuẩn làm việc có nồng độ 177, 354, 530, 707 μ mol/l:

Pha từ D.d. creatinin chuẩn gốc, trong bình định mức 100 ml, theo bảng sau:

| D.d.creatinin chuẩn làm việc | D.d.creatinin chuẩn gốc | D.d. HClO 0,1N |
|-------------------------------------|-------------------------|----------------|
| D.d.creatinin chuẩn 177 μ mol/l | 2 ml | Vừa đủ 100 ml |
| D.d.creatinin chuẩn 350 μ mol/l | 4 ml | Vừa đủ 100 ml |
| D.d.creatinin chuẩn 530 μ mol/l | 6 ml | Vừa đủ 100 ml |
| D.d.creatinin chuẩn 707 μ mol/l | 8 ml | Vừa đủ 100 ml |

IV/ NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Creatinin máu và nước tiểu, urê máu và nước tiểu, ion đồ máu và nước tiểu là những thông số hóa sinh quan trọng đánh giá mức độ suy thận suy thận, tuy nhiên khi có mặt creatinin trong dịch chọc dò hướng tới các vấn đề về ngoại khoa.

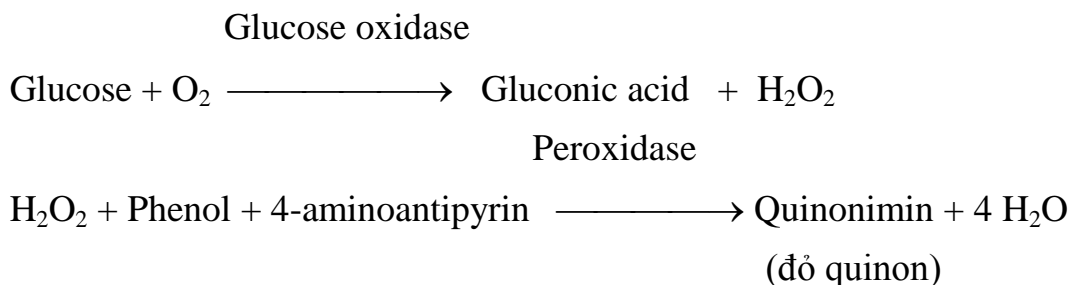
VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

214. ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE

I. NGUYÊN LÝ

Theo phương pháp enzym quang học (GOD- PAP):

Xác định nồng độ glucose sau khi oxy hoá glucose bằng glucooxidase (GOD), peroxide hydrogen được tạo thành tác dụng với 4-aminoantipyrin và phenol nhờ xúc tác của peroxidase (POD) tạo phức hợp màu quinonimin, theo các phản ứng sau:



Đo mật độ quang ở bước sóng 546 nm, so với glucose chuẩn sẽ tính được kết quả.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Thuốc thử và chất thử:

+ Thuốc thử: loại thuốc thử của hãng Human, thành phần gồm có:

+ Đệm phosphat (pH = 7,5) 250 mmol/l.

+ Phenol 5 mmol/l.

+ 4-aminoantipyrin 0,5 mmol/l.

+ Glucooxidase (GOD) ≥ 10 kU/l.

+ Dung dịch glucose chuẩn 5,55 mmol/l (1g/l).

- Chất thử: huyết thanh, huyết tương chống đông bằng Heparin hoặc EDTA.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc cần thiết làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi,

mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ glucose.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng glucose các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

2. Tiến hành kỹ thuật

- Tiến hành trên máy 4010”

+ Đặt chế độ máy: chương trình C/St.

Bước sóng 500 nm hoặc 546 nm.

Nhiệt độ 20, 25°C hoặc 37°C.

Hệ số (F): 5,55.

- Cách tiến hành: cho thuốc thử vào 3 ống nghiệm nhỏ theo bảng sau:

| Thuốc thử | Ống trắng (-) | Ống chuẩn (S) | Ống thử (T) |
|--------------------|---------------|---------------|-------------|
| Thuốc thử | 1 ml | 1 ml | 1 ml |
| H ₂ O | 10 µl | - | - |
| D. d glucose chuẩn | - | 10 µl | - |
| Bệnh phẩm | - | - | 10 µl |

Trộn đều, ủ 20 phút/20 - 25°C hoặc 10 phút/37°C.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường không có glucose trong các dịch chọc dò

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

215. ĐO HOẠT ĐỘNG LDH (Lactat dehydrogenase)

I. NGUYÊN LÝ

LDH được đo dựa theo phản ứng:

LDH

Acid Pyruvic + NADH₂ -----> Acid Lactic + NAD⁺

Hoạt độ LDH được đo bằng sự giảm theo thời gian của NADH₂ ở bước sóng 340nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...

Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).

Kit thuốc thử LDH (hãng Beckman coulter)

Thuốc thử R1: Đệm pH7,5

- Phosphat : 50 mmol/l
- Acid Pyruvic: 0,6 mmol/l
- Thuốc thử R2: Cơ chất NADH₂ : 0,18 mmol/l

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc cần làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Xác định hoạt độ LDH

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng LDH các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

2. Tiến hành kỹ thuật

Pha thuốc thử R1 và R2 theo tỷ lệ 1:1. Cho vào 3 ống nghiệm

| | Ống trắng | Ống chuẩn | Ống thử |
|-----------|-----------|-----------|---------|
| Thuốc thử | 1 ml | 1 ml | 1 ml |
| Nước cất | 10 µl | | |
| Chuẩn | | 10 µl | |
| Mẫu thử | | | 10 µl |

Lắc đều, ủ 37⁰C trong 5 phút hoặc 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang học ở bước sóng 340 nm so với ống chuẩn để tính kết quả.

Tính kết quả: Nồng độ ống mẫu :

$$C_U = OD_U / OD_S * C_S \text{ (U/l)}$$

OD_U là mật độ hấp thu của ống mẫu

OD_S là mật độ hấp thu của ống chuẩn

C_U là hoạt độ LDH mẫu

C_S là hoạt độ LDH chuẩn

Chú ý: Có thể tiến hành trên máy bán tự động cài đặt chương trình với các thông số như trên. Khi làm, đo mật độ quang của ống trắng trước. Sau đó đưa vào ống chuẩn máy sẽ tự động đo và tính ra hệ số. Tiếp đó đưa theo thứ tự các ống thử vào máy sẽ tự động đo và tính ra kết quả hiện trên máy hoặc in ra giấy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường không có LDH trong dịch chọc dò

VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

216. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN TOÀN PHẦN (Phương pháp Gornal)

I. NGUYÊN LÝ

Các liên kết peptid trong phân tử protein kết hợp với ion Cu^{++} trong môi trường kiềm tạo thành phức hợp màu xanh tím. Cường độ màu xanh tỷ lệ với nồng độ protein (số lượng liên kết peptid) có trong huyết thanh. Đo mật độ quang học so với chuẩn tính được kết quả.

Phản ứng xảy ra như sau:



Độ nhạy: Xét nghiệm chính xác ở nồng độ protein từ 2 - 120 g/l.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...
- Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).
- D.d. protein chuẩn ($C_s = 60$ g/l).
- D.d. NaCl 0,9%.
- Thuốc thử Gornall.

Kali và Natri tartate trong thuốc thử Gornall có vai trò ngăn cản sự kết tủa của đồng hydroxide đồng thời Kali iodua ngăn cản phản ứng tự khử của ion đồng.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được nhịn ăn 8 - 12 giờ trước khi lấy máu.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ protein toàn phần.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng protein toàn phần các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

2. Tiến hành kỹ thuật

Cho vào 3 ống nghiệm

| | Ống trắng | Ống chuẩn | Ống thử |
|----------------------|-----------|-----------|---------|
| Thuốc thử | 1 ml | 1 ml | 1 ml |
| Nước cất | 10 µl | | |
| Protein chuẩn | | 10 µl | |
| Mẫu thử | | | 10 µl |

Lắc đều, ủ 37⁰C trong 5 phút hoặc 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang học ở bước sóng 546 nm, so với ống chuẩn để tính kết quả.

Tính kết quả: Nồng độ ống mẫu :

$$C_U = OD_U / OD_S * C_S \text{ (g/l)}$$

OD_U là mật độ hấp thu của ống mẫu

OD_S là mật độ hấp thu của ống chuẩn

C_U là nồng độ protein toàn phần mẫu

C_S là nồng độ protein toàn phần chuẩn

Chú ý: Có thể tiến hành trên máy bán tự động đã cài đặt chương trình như trên. Khi làm, đo mật độ quang của ống trắng trước. Sau đó đưa vào ống chuẩn máy sẽ tự động đo và tính ra hệ số. Tiếp đó đưa theo thứ tự các ống thử vào máy sẽ tự động đo và tính ra kết quả hiện trên máy hoặc in ra giấy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường không có protein trong dịch chọc dò. Nồng độ protein < 30g/L hướng tới dịch thấm, nồng độ protein > 30g/L hướng tới dịch tiết.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

217. PHẢN ỨNG RIVALTA

I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên phản ứng Protein bị kết tủa bởi acid acetic.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

Hóa chất:

Dung dịch acid acetic đặc.

Hóa chất được bảo quản ở 25 - 30⁰C.

3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Dịch chọc dò.

Dịch chọc dò, bảo quản ở 2 – 8⁰C.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất acid cetic đặc.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cho vào ống đong 100 ml nước cất.
- Nhỏ vào đó 1 giọt acid acetic đặc rồi trộn đều.
- Dùng pipet hút dịch chọc dò và nhỏ vài giọt vào dung dịch vừa pha và quan sát:
 - + Nếu thấy hiện tượng tủa trắng khi giọt dịch rơi xuống đáy cốc thì phản ứng Rivalta(+), tức là dịch đó là dịch tiết và kết quả định lượng protein dịch chọc dò thường trên 30g/L. Dịch này gặp trong các trường hợp do viêm.
 - + Nếu không có hiện tượng trên thì phản ứng Rivalta (-) và dịch đó thường là dịch thấm và lượng protein thường dưới 30 g/L, gặp trong các bệnh xơ gan, hội chứng thận hư.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Phản ứng Rivalta dương tính trong

Dịch tiết: dịch được hình thành trong cơ chế viêm.

2. Phản ứng Rivalta âm tính trong

Dịch thấm: dịch thấm là dịch được tạo thành do sự chênh lệch áp lực giữa dịch trong lòng mạch và ngoài gian bào (hội chứng tăng áp lực tĩnh mạch cửa, suy tim phải), do giảm áp lực keo (hội chứng thận hư, đói ăn, bồng nạng), hoặc cả 2 yếu tố trên (trong xơ gan).

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Dịch chọc dò của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

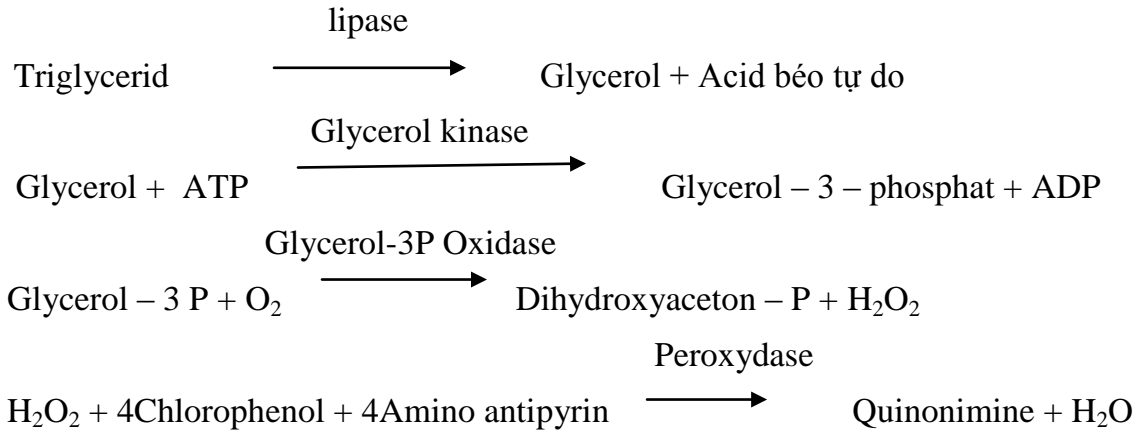
Dung dịch acid acetic đặc phải được pha đúng theo tiêu chuẩn, trong suốt, không bị vẩn đục.

3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

218. ĐỊNH LƯỢNG TRIGLYCERID

I. NGUYÊN LÝ



II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...
- Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).
- Kit của hãng Human.

+ Thuốc thử

R1: BUFFER

Chloro - 4 - phenol

Magnesium Chlorid

R2: ENZYM

Lipase

Peroxydase

Glycerol - 3 phosphat oxidase

Glycerol kinase

4 - amino - antipyrin

ATP

R3: Standard

Dung dịch Triglycerid chuẩn: 200mg/dL(2.28 mmol/l)

Working solution: R1 + R2, lắc cho tan đều để ổn định 10 phút, bèn 30 ngày 4°C, đựng trong chai nâu.

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc cần làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ triglycerid.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Dịch chọc dò cần ly tâm thu lấy dịch trong thể định lượng.

2. Tiến hành kỹ thuật

Cho vào 3 ống nghiệm

| | Ống trắng | Ống chuẩn | Ống thử |
|--------------------------|-----------|-----------|---------|
| Thuốc thử | 1 ml | 1 ml | 1 ml |
| Nước cất | 10 µl | | |
| Triglycerid chuẩn | | 10 µl | |
| Mẫu thử | | | 10 µl |

Lắc đều, ủ 37°C trong 5 phút hoặc 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang học ở bước sóng = 500 nm (480 – 520 nm) so với ống chuẩn để tính kết quả.

Tính kết quả: Nồng độ ống mẫu :

$$C_U = OD_U / OD_S * C_S \text{ (mg/dL hoặc mmol/l)}$$

OD_U là mật độ hấp thu của ống mẫu

OD_S là mật độ hấp thu của ống chuẩn

C_U là nồng độ Triglycerid mẫu

C_S là nồng độ Triglycerid chuẩn

Chú ý: Có thể tiến hành trên máy bán tự động, cài đặt chương trình như trên. Khi

làm, đo mật độ quang của ống trắng trước. Sau đó đưa vào ống chuẩn máy sẽ tự động đo và tính ra hệ số. Tiếp đó đưa theo thứ tự các ống thử vào máy sẽ tự động đo và tính ra kết quả hiện trên máy hoặc in ra giấy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường không có Triglycerid trong dịch chọc dò, khi xuất hiện thường hướng tới hiện tượng vỡ bạch mạch do giun chỉ.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

219. ĐO TỈ TRỌNG DỊCH CHỌC DÒ (Bằng máy tự động)

I. NGUYÊN LÝ

Khúc xạ kế.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1. Máy phân tích nước tiểu tự động: Urisys 2400, Siemen,

2.2. Hóa chất

- Urisys 2400 cassette
- Hóa chất được bảo quản ở 25- 30⁰C.

3. Người bệnh

Dịch chọc dò; bảo quản ở 2 - 8⁰C.

4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Dịch chọc dò.

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1 Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất.

2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Dịch chọc dò được phân tích trên máy theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Tỉ trọng:

Bình thường tỉ trọng dịch chọc dò vào khoảng 1,014 - 1,028. Tỉ trọng tăng trong bệnh ĐTD, giảm trong bệnh đái tháo nhạt. Tỉ trọng thấp kéo dài cũng thường gặp trong suy thận.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

1. Trước phân tích

Dịch chọc dò của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

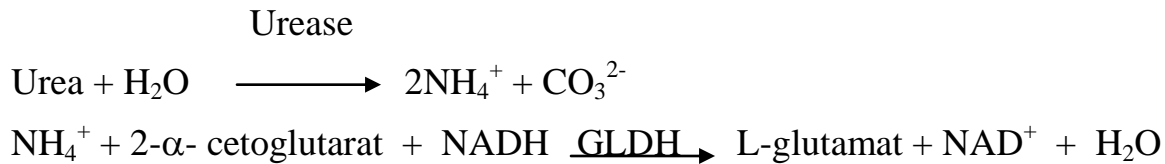
3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

220. ĐỊNH LƯỢNG URE

I. NGUYÊN LÝ

Urê được thủy phân tạo thành amoniac và CO₂ nhờ urease xúc tác. Amoniac tạo thành kết hợp với α-cetoglutarat và NADH thành glutamat và NAD⁺ nhờ glutamatdehydrogenase (GLDH) xúc tác. Đo sự giảm mật độ quang của NADH ở bước sóng 340nm.



II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...

- Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).

+ Chất thử: Huyết thanh, huyết tương chống đông bằng heparin, dịch màng phổi, dịch màng bụng, dịch não tủy, nước tiểu pha loãng 100 lần với nước cất (kết quả nhân với 100). Đối với dịch, nước tiểu cần ly tâm lấy dịch trong để định lượng.

+ Thuốc thử

- Thuốc thử 1 (R1) đã pha sẵn

Đệm tris (pH=7,8) : 120mmol/l

ADP : 750 mmol/l

Urease : > 40 KU

GLDH : > 0,4 KU

- Thuốc thử 2 (R2) đã pha sẵn

α-Cetoglutarat : 25 mmol/l

NADH : 1,2 mmol/l

Khi làm trộn lẫn R1 và R2 theo tỷ lệ hướng dẫn ghi trên hộp.

- Dung dịch urê chuẩn : 13,3 mmol/l (80 mg/dl).

3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc cần thiết làm xét nghiệm.

4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ ure.

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng urê các dịch cân ly tâm thu lấy dịch trong đê định lượng.

2. Tiến hành kỹ thuật

Cho vào các ống nghiệm cỡ 5ml các theo thứ tự như sau:

| Thuốc thử | ống trắng | ống chuẩn/thử |
|--|--------------|---------------|
| Dung dịch chuẩn/huyết thanh | | 10 μ l |
| Hỗn hợp thuốc thử | 1000 μ l | 1000 μ l |
| Trộn đều, đọc mật độ quang sau 30 giây (A1). Chính xác sau 60 giây đọc mật độ quang (A2) | | |

Cách tính kết quả:

$$\Delta A_{\text{chuẩn/thử}} = A2 - A1$$

$$C = \Delta A_{\text{thử}} / \Delta A_{\text{chuẩn}} \cdot 13,3 \text{ (mmol/l)}$$

Chú ý: Có thể tiến hành trên máy bán tự động Stat Fax đã cài đặt chương trình như trên. Khi làm, đo mật độ quang của ống trắng trước. Sau đó đưa vào ống chuẩn máy sẽ tự động đo và tính ra hệ số. Tiếp đó đưa theo thứ tự các ống thử vào máy sẽ tự động đo và tính ra kết quả hiện trên máy hoặc in ra giấy.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Chưa có giá trị tham khảo về ure trong dịch chọc dò

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ