

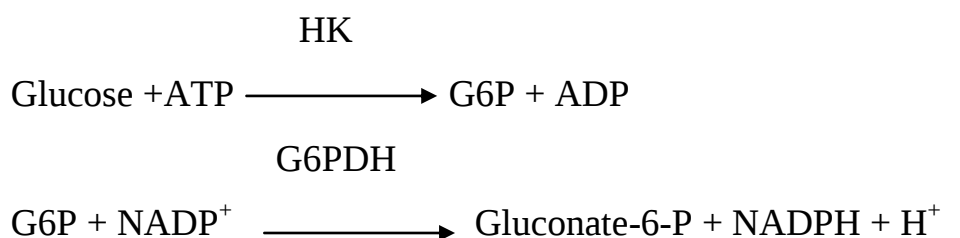
CHƯƠNG 1: HÓA SINH

1. 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 N DPH 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 2-8°C 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 nhìn 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 15-25°C trong vòng 8 giờ, ở 2-8 °C được 72 giờ. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) 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 tụy 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

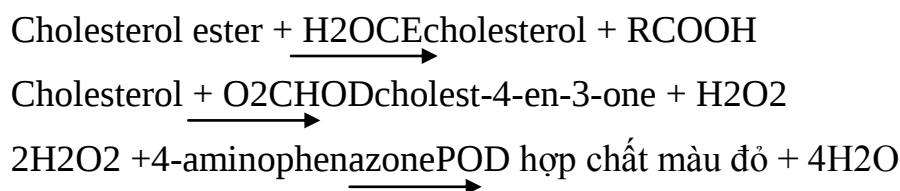
Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm lâu ngày không ly tâm và định lượng ngay gây hiện tượng hủy đường	Làm giảm kết quả. Sau 1 giờ giảm 7%	Sử dụng chất chống đông NAF để tránh hủy đường
Lấy máu sau ăn	Làm tăng kết quả	Làm lại mẫu lúc đói
Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng 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

2. 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: Cholesterol esterase

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, cholesterol ester, POD, cholesterol oxydase ...

Bảo quản ở 2-8°C 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, 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 Li-heparin. Không sử dụng citrate, oxalate, fluorid. Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 7 ngày, ở -20°C được 3 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) 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.

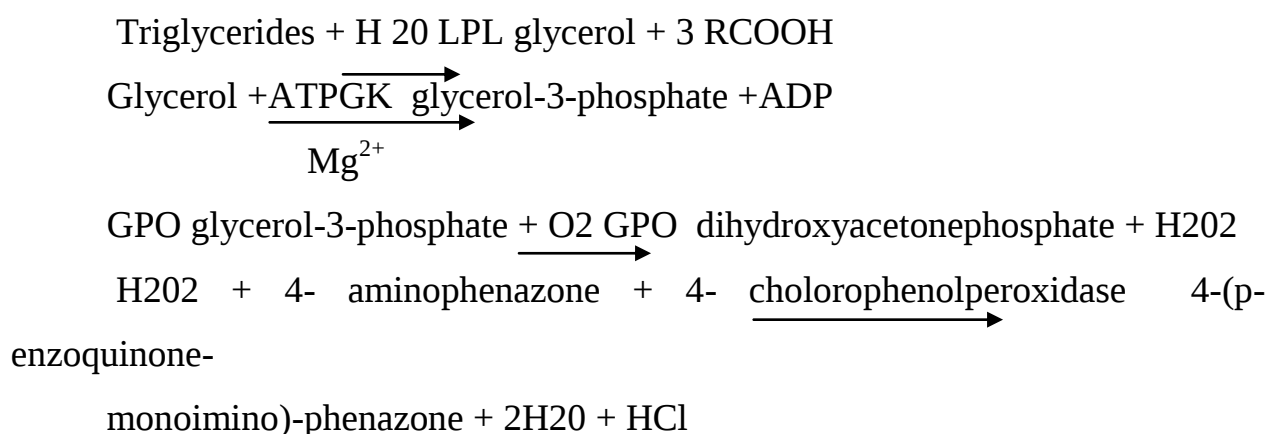
Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, đang sử dụng thuốc	Kết quả ảnh hưởng không rõ	
Nồng độ > dải đo (0,1- 20,7 mmol/ L)	Sai lệch kết quả	Pha loãng bệnh phẩm

3. 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 (MODUL R, COB S 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).

- Máy ly tâm

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

- Pipét tự động các loại 1000 µl, 500 µl, 100 µl, 50µl và 10 µ .
- 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, EDT , 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 2-8 °C và 3 tháng ở nhiệt độ (-15)-(- 25).°C

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.
- 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 cồng 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 MODUL R, COB S 6000, COB S 8000 (hãng Roche), hoặc các máy U 640, U 2700, U 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 XỬ 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.

4. ĐỊNH LƯỢNG HDL-C

I. NGUYÊN LÝ:

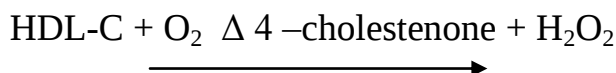
HDL-C (High Density Lipoprotein cholesterol) là thành phần vận chuyển cholesterol từ máu về gan. Nồng độ HDL-C máu có liên quan đến nguy cơ mắc chứng xơ vữa động mạch. Làm tăng nồng độ HDL là góp phần điều trị bệnh lý tim mạch.

HDL-C được định lượng theo phương pháp enzyme so màu

PEG-Cholesterol esterase



PEG- Cholesterol oxidase



$2\text{H}_2\text{O}_2 + 4\text{amino-antipyrine} + \text{HSDA} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{H}_2\text{O Peroxidase}}$ hợp chất màu xanh tím

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 2-8 °C 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 nhìn 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 2-8°C trong vòng 7 ngày, ở - 60°C được 1 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) 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

5. ĐỊNH LƯỢNG LDL-C (Low Density Lipoprotein cholesteron)

I. NGUYÊN LÝ:

LDL-C (Low Density Lipoprotein cholesteron) 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 .

LDL-C esters + H₂O Detergent Cholesterol + acid béo tự do
Cholesterol esterase

LDL-C + O₂ cholesterol oxidase Δ 4 –cholestenone + H₂O₂

$2 \text{H}_2\text{O}_2 + 4\text{amino-antipyrine} + \text{HSDA} + \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$ peroxidase hợp chất màu xanh tím

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 2-8 0C 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 2-8°C trong vòng 7 ngày, ở - 60°C

được 1 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) 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

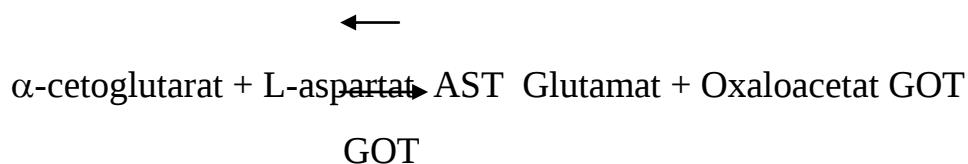
6. ĐO HOẠT ĐỘ AST (Aspartat transaminase)

AST còn được gọi là GOT (Glutamat oxaloacetat transaminase)

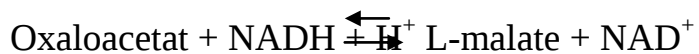
I. NGUYÊN LÝ

Đo hoạt độ ST thường được làm cùng với LT để xác định bệnh lý và theo dõi tiến triển của gan hay tim mạch,. Ngoài ra ST 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:



MDH



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 (MODUL R, COB S 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).

-Máy ly tâm

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

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

-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 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 2-8 °C.

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 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.

- 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 ST được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODUL R, COB S 6000, COB S 8000 (hãng Roche), hoặc các máy U 640, U 2700, U 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 ST là: cetaminophen, 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 ST là; metronidazol, trifluoperazin.

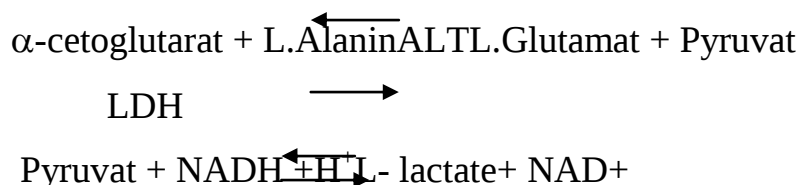
7. ĐO HOẠT ĐỘ ALT (Alanin transaminase)

ALT còn được gọi là GPT (Glutamat pyruvat transaminase)

Đo hoạt độ LT thường được làm cùng với ST để xác định bệnh lý về gan, theo dõi tiến triển của bệnh. Ngoài ra LT 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 ALT 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 (MODUL R, COB S 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).

- Máy ly tâm

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

- Pipét tự động các loại 1000 µl, 500 µl, 100 µl, 50µl 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 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 2-8 °C.

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 LP được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODUL R, COB S 6000, COB S

8000 (hãng Roche), hoặc các máy U 640, U 2700, U 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 XỬ 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.

8. 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 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 2-8 °C 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 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 EDT, heparin. Bảo quản ở 2-8 °C trong vòng 7 ngày, ở -20 °C được 3 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) 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

9. 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 2-8 °C 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 EDT , heparin (không dùng ammonium heparin. Bảo quản ở 2- 8°C trong vòng 7 ngày, ở - 20 °C được 12 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) 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

10. 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 (MODUL R, COB S 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).

-Máy ly tâm .

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

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

-Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.

-Bông, cồn, 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.

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 2-8°C và 6 tháng ở nhiệt độ (-15)-(-25)°C.

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 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 giả trong chương trình cài đặt.

-Dụng 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 định lượng protein toàn phần được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODUL R, COB S 6000, COB S 8000 (hãng Roche), hoặc các máy U 640, U 2700, U 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 Waldestrom.
- 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 (bong).
- 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 XỬ 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...

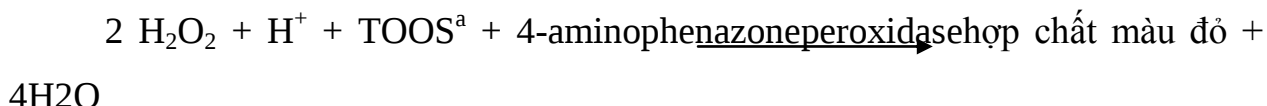
Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:
 - +Máu 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: spirin, 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.

11. 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, ADVIA 1800
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: buffer, TOOS ...

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

Bảo quản ở 2-8 °C 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 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 2-8 °C trong vòng 5 ngày, ở - 20°C được 6 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) 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 – 416mol/l μ

- Nữ: 143 – 399 mol/l μ

- 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 ống này
Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin tăng, 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

12. 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 $\Rightarrow$ 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, U 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 EDT . 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

-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: $<17.1 \mu\text{mol/L}$

- 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

-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).

13. 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.
Bilirubin + diazonium ion $\Rightarrow$ Azobilirubin

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, U 640, ADVIA 1800....
-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 EDT. 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).

14. ĐỊNH LƯỢNG ALBUMIN

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng lbumin trong máu của người bệnh theo phương pháp so màu

PH=4.1

Albumin + BCG => Albumin BCG complex

(BCG: Bromcresol green)

Phức hợp albumin BCG có màu xanh tỷ lệ thuận với nồng độ lbumin 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, U 640, ADVIA 1800....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm lbumin, chất chuẩn lbumin, 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, EDT , 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 lbumin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm lbumin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm lbumin 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

15. ĐỊNH LƯỢNG SẮT

I. NGUYÊN LÝ

Định lượng Sắt (Fe) trong mẫu máu của người bệnh theo phương pháp đo màu theo phản ứng. $\text{PH} < 2$

$\text{Transferin-Fe-complex} \Rightarrow \text{apotransferrin} + \text{Fe}^{3+}$

ascorbate

$\text{Fe}^{3+} \Rightarrow \text{Fe}^{2+}$

$\text{FerroZine} + \text{Fe}^{2+} \Rightarrow \text{colored complex}$

Trong huyết thanh, sắt kết hợp với protein. Trong môi trường acid liên kết FeTransferin 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, U 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 CTH hoặc các corticoid.

V.NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng sai mẫu bệnh phẩm: sử dụng huyết tương chống đông bằng EDT , 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

16. 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 Idimin, sau đó Idimin sẽ được chuyển thành Hb 1c theo sự chuyển madori không đảo ngược. Đường đơn trong máu chủ yếu là glucose do vậy thành phần chủ yếu của Hb 1 là Hb 1c (70%). Do vậy Hb 1c có giá trị chuyên biệt hơn Hb 1a1, Hb 1a2, Hb 1b nói riêng và Hb 1 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 Hb 1c 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 2 ; Dung dịch B; dung dịch pha loãng, dung dịch rửa, peek columHbA1c, fit, 2 micron, 5/pk 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 oC có thể bảo quản được một tuần).

2. Tiến hành kỹ thuật

2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dụng 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 Hb 1C là 4- 6 % (tăng khi > 6,5%).
- Tỷ lệ tương đối giữa trị số Hb 1c, nồng độ glucose và Fructosamine máu

Hb A1c	Glucose máu	Fructos amine
%	(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

- HbA_{1c} có thể “tăng giả” :

PreHb 1c; HbF; Hội chứng ure máu cao (cơ chế: do Hb bị carbamyl hóa);...

- HbA_{1c} 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)...

17. 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 2-8 °C 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, 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 heparin (không dùng chất chống đông là EDT , oxalate xitrat). Bảo quản ở 2-8 0C trong vòng 14 ngày (Cl- được 7 ngày). 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:

- 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, bồng nặng, tắc ruột cấp, suy tim, NMCT..

- Kali máu giảm trong :

- Bệnh Westphal
- Cường vỏ thượng thận
- Nhiễm acid tiểu đường

- Bỏng
 - Dùng thuốc lợi niệu.
- Na máu tăng trong:
- Tồn 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 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.
 - Bỏng 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	Sai lệch kết quả	Không sử dụng các mẫu này

Natri hoặc kali hoặc clo		
Bệnh phẩm huyết tán	Kết quả Kali sai tùy mức độ	Không sử dụng mẫu này

18. TỔNG PHÂN TÍCH NƯỚC TIỂU

(Bảng 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, Siemens, Combi Scan500...

2.2. Hóa chất

Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30°C.

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 - 8 °C.

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 cetonic

Bình thường không có các chất cetonic 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 mặt 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, TH , 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.

19. ĐO HOẠT ĐỘ AMYLASE - MÁU

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 mylase trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym.

α -amylase

$5 \text{ ethylidene-G7PNP} + 5 \text{ H}_2\text{O} \rightleftharpoons 2 \text{ ethylidene-G5} + 2 \text{ G2PNP} + 2 \text{ ethylidene-}$

$\text{G4} + 2 \text{ G3PNP} + \text{ethylidene-G3} + \text{G4PNP}$

α -glucosidase

$2 \text{ G2PNP} + 2 \text{ G3PNP} + \text{G4PNP} + 14 \text{ H}_2\text{O} \rightleftharpoons 5 \text{ PNP} + 14 \text{ G}$

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

Người thực hiện

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

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 mylase, chất chuẩn α Amylase, chất kiểm tra chất lượng α Amylase.

Người bệnh

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

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

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.

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.

VI. 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 $\mu\text{mol/L}$.

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 mô hôi có chứa α Amylase nên tránh để nhiễm những chất này vào bệnh phẩm hay hóa chất.

20. 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: $< 0.5 \text{ mg/dL}$.
- 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 $< 60 \text{ mg/dL}$ hay $1026 \mu\text{mol/L}$.
- + Tán huyết: Hemoglobin $< 1000 \text{ mg/dL}$ hay $621 \mu\text{mol/L}$.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride $< 1600 \text{ mg/dL}$ (18.2 mmol/L).
- + Yếu tố dạng thấp $< 1200 \text{ IU/mL}$.

+ 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).

21. 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: $< 24 \text{ U/L}$
- 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 $< 60 \text{ mg/dL}$ hay $1026 \mu\text{mol/L}$.
 - + Tán huyết: Hemoglobin $< 20 \text{ mg/dL}$
 - + Huyết thanh đục: Triglyceride $< 600 \text{ mg/dL}$.
- 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).

22. 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

$\text{Ca}^{2+} + \text{o-cresolphtalein complexone} \rightleftharpoons \text{phức hợp calcium - CPC}$

II. CHUẨN BỊ

Người thực hiện

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

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 15-25°C 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 ...

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

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

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 $2-8^{\circ}\text{C}$ trong vòng 3 tuần, ở -20°C được 8 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng ($20-25^{\circ}\text{C}$) và lắc đều trước khi tiến hành XN.

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.

VI.NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường: $2.15 - 2.55 \text{ mmol/l}$

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

23. LẤY KHÍ MÁU ĐỘNG MẠCH QUAY LÀM XÉT NGHIỆM

I. ĐẠI CƯƠNG

Là thủ thuật lấy máu động mạch quay làm xét nghiệm khí máu.

II. CHỈ ĐỊNH

- Chẩn đoán các rối loạn thăng bằng kiềm toan.
- Đánh giá bản chất, mức độ nặng, theo dõi đáp ứng điều trị các rối loạn hô hấp và chuyển hóa.

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Thận trọng đối với những trường hợp rối loạn đông cầm máu.
- Tuần hoàn động mạch quay kém.
- Nhiễm trùng da vùng định lấy khí máu.

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Bác sỹ:
 - + Xem xét chỉ định lấy máu động mạch.
 - + Giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh mục đích của thủ thuật, các tai biến trong quá trình làm thủ thuật để người bệnh hợp tác tốt.
- Điều dưỡng:
 - + Ghi tên, tuổi, số giường của người bệnh vào sổ theo dõi xét nghiệm.
 - + Chuẩn bị dụng cụ lấy khí máu (ống mao dẫn) hoặc bơm tiêm 1ml tráng heparin có ghi họ tên, tuổi, số giường của người bệnh trên ống.

2. Phương tiện

- khay quả đậu 1 chiếc.
- Bơm tiêm 1ml có tráng heparin hoặc dụng cụ lấy khí máu có sẵn.
- Găng sạch: 1 đôi.
- Bông cồn sát trùng.

3. Người bệnh

Người bệnh ở tư thế thoải mái (nằm, ngồi) để cẳng tay ngửa trên mặt phẳng, cổ tay duỗi.

V. CÁC BƯỚC THỰC HIỆN

- Bắt mạch cổ tay để xác định sơ bộ vị trí động mạch quay.
- Rửa tay đi găng sạch.
- Bắt mạch bằng ngón hai, ba (không được chọc nếu không xác định được mạch).
- Sát khuẩn vùng da định lấy khí máu.
- Chọc kim qua da theo góc 15 độ, mặt vát kim quay lên trên.
- Nếu chọc đúng động mạch sẽ thấy máu trào qua đốc kim, dao động theo nhịp mạch.
- Đối với kim gắn bơm tiêm, khi thấy máu vào kim tiêm, hút nhẹ piston. Đối với dụng cụ mao dẫn máu sẽ tự hút vào đường dẫn.
- Lấy đủ lượng máu cần thiết.
- Rút kim, dùng bông vô khuẩn ấn chặt vào vị trí lấy máu 5 phút.
- Sát trùng và băng lại vị trí lấy khí máu.
- Đưa nhanh đầu bơm tiêm vào đúng vị trí trên máy 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.

VI. THEO DÕI:

Kiểm tra vị trí chọc xem có chảy máu không.

VII. TAI BIẾN VÀ XỬ TRÍ

- Các tai biến rất ít gặp: phình động mạch quay, tụ máu gây hội chứng khoang.
- Trường hợp thất bại chuyển lấy khí máu động mạch quay tay bên kia hoặc động mạch cánh tay, động mạch bẹn.

CHƯƠNG 2: MIỄN DỊCH

24. 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.

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 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.

VI. 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).

25. 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 NS. 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, rchitect....

- 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

II. 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-EDT. 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.

III. 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.

VI. 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).

26. 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 NS. 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
- 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.

VI. 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).

27. 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
- 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.

VI. 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).

28. 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 NH₄, Li, 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
- 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.

VI. 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

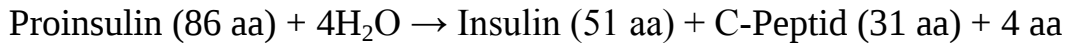
- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + 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).

29. 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 nti- c-peptid - b~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 nti- c-peptid - b~Ru(bpy), thể tích 9 mL: ³ 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

2.4. 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.

2.5. 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.

VI. 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	196	1.1 - 4.4	ng/ml
		0.65	0.37 - 1.47	nmol/ml
C-peptide in 24h urine	79	54.8	17.2 - 181	mcg/ml
		18.3	5.74 - 60.3	nmol/24h

Hệ số chuyển đổi:

ng/mL (μ g/L) x 0,33333= nmol/L ng/mL x 333,33= pmol/L

nmol/L x 3,0= ng/mL 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 μ 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.

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 carbohydrat. 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 nti-insulin- b~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 nti-insulin- b~Ru(bpy), thể tích 1³0 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 , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

2.4 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.

2.5 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: Liheparin, 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.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số tham khảo

17,8 -173 pmol/L (2,6 – 24,9 μ U/mL)

2. 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.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

+ Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi: Bilirubin > 1539 $\mu\text{mol/l}$ (>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).

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. Progesteron 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 EDT. Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 14 ngày, ở - 20°C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) 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.

VI. 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.

Thể 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

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. Testosteron 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. HUẤN 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, rchitect...
- 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 EDT. Bảo quản ở $2-8^{\circ}\text{C}$ trong vòng 7 ngày, ở -20°C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng ($20-25^{\circ}\text{C}$) 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.

VI. 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.

29.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 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 3 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 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 AntiTPO. 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.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường: <34 IU/mL
- Anti-TPO máu tăng trong: Viêm tuyến giáp Hasimoto. Một số bệnh về tuyến giáp như: viêm tuyến giáp, Basedow.

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. 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).

30. 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

- 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.

VI. 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 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.

- 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).

31. 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

- 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.

VI. 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).

32. 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 hóa 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 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 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 FP 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).

33. ĐỊNH LƯỢNG TnI (TROPONIN I)

I. NGUYÊN LÝ

Troponin là đơn vị điều hòa co 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.

I. 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.

II. 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, EDT. Không sử dụng chất chống đông Oxalat và Fluorid cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu. f

- 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.
- 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.

III. 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...

IV. 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).

34. 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, rchitect....

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.

VI. 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 nhằm chất chống đông (Xét nghiệm yêu cầu sử dụng chất chống đông EDT). - 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).

35. 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...

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 $\text{K}_3\text{-EDTA}$, 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).

36. 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 Immuno Assay) 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 arcecinium 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.

2.3. Người bệnh

- Người bệnh nghi bị rối loạn tuyến thượng thận.
- Người bệnh đang điều trị thuốc Corticoid

2.4. Phiếu xét nghiệm: Theo mẫu quy định của bệnh viện và của Bộ Y tế

III. CÁC BƯỚC TIẾN 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.

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. 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.

2.3. 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 $\leq -10^{\circ}\text{C}$.

2.4. 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 đầy.
- 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 chúng vào từng cup đựng mẫu tương ứng.
- Nạp mẫu và nhấn nút RUN.
- *Quy trình pha loãng mẫu*
- Mẫu với giá trị Cortisol $> 1620 \text{ nmol/L}$ 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.

VI. 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 ($\mu\text{g/dL}$)	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

Bỏn, 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 đã 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.

37. 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 trò 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

2.2. 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 nti-NT-proBNP- b~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 nti-NT-proBNP- b~Ru(bpy) thể tích 9 mL: ³ 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

2.4. 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

2.5. 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

- Dụng 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.

VI. 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 μ 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 8giờ trước khi lấy mẫu.

CHƯƠNG III: HUYẾT HỌC

38. THỜI GIAN THROMBOPLASTIN TỪNG PHẦN HOẠT HÓA

1. Nguyên lý

Đo thời gian tính từ lúc cho một lượng thừa calci vào huyết tương citrate hoá sau khi được ủ với kaolin (hoạt hoá yếu tố tiếp xúc) và cephalin (thay thế yếu tố 3 tiểu cầu) cho đến khi hình thành cục đông. Xét nghiệm này loại được ảnh hưởng của yếu tố tiếp xúc và tiểu cầu cho nên đánh giá được chính xác hơn các yếu tố đông máu nội sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích đông máu tự động.
- Hóa chất CaCl_2 2 M/40 và cephalin-kaolin theo bộ kit phù hợp với từng loại máy.

3. Tiến hành kỹ thuật

– Hiện nay có các loại máy đang được sử dụng với 2 nguyên lý khác nhau để thực hiện xét nghiệm thời gian thromboplastin từng phần hoạt hoá (APTT): loại máy với nguyên lý quang học và loại máy với nguyên lý trở kháng dựa vào sự dao động của viên bi để tính thời gian đông máu.

– Đối với mỗi phòng xét nghiệm nên xác lập khoảng tham chiếu, giá trị chứng thời gian thromboplastin từng phần hoạt hoá.

– Mẫu máu kiểm tra được chống đông bằng natri citrat 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ chống đông là 1/10. Ly tâm tốc độ 3000v/p trong 10 phút.

– Tiến hành xét nghiệm trên máy phân tích đông máu tự động theo protocol riêng của từng máy.

4. Cách đọc kết quả xét nghiệm

Trị số bình thường của APPT phụ thuộc vào loại hóa chất và phương tiện thực hiện. Mỗi phòng xét nghiệm nên xác lập giá trị bình thường riêng.

APTT của huyết tương bình thường thay đổi từ 25-35 giây tùy loại cephalin-kaolin, tùy kỹ thuật mà từng phòng xét nghiệm sử dụng.

Kết quả của xét nghiệm này có thể biểu thị bằng tỷ lệ bệnh/chứng:

$$rAPTT = APTT \text{ bệnh} / APTT \text{ chứng}$$

rAPTT bình thường từ 0,85-1,20.

5. Nguyên nhân sai lầm khi xét nghiệm

Do mẫu bệnh phẩm: mẫu máu bị đông, sai tỷ lệ chống đông, không đúng chất chống đông, chất chống đông bị hỏng, nhiễm heparin do quá trình lấy máu; huyết tương đục hoặc vỡ hồng cầu (đối với máy phân tích tự động theo nguyên lý trở kháng đã khắc phục được nhược điểm này); mẫu máu để quá 4 giờ kể từ khi lấy máu mới tiến hành xét nghiệm.

Do phương tiện, hoá chất: do chất lượng CaCl_2 2 M/40 và cephalin-kaolin không đảm bảo hoặc đã quá thời gian bảo quản; mẫu huyết tương chứng không lấy tập hợp huyết tương hoặc lấy tập hợp huyết tương từ một lượng ít hơn 5 người; ống nghiệm sử dụng không sạch; pipet hỏng, không đảm bảo đúng thể tích; máy phân tích đông máu không đảm bảo tính chuẩn xác và độ lặp lại.

Do kỹ thuật: không đảm bảo đúng quy trình kỹ thuật; đọc và tính kết quả sai...

6. Ý nghĩa của xét nghiệm

APTT kéo dài (Khi kéo dài hơn chứng trên 8 giây, hoặc tỷ lệ APTT bệnh/chứng (rAPTT) > 1,2) là tình trạng rối loạn đông máu nội sinh (giảm đông) do thiếu hụt yếu tố có thể bẩm sinh (hemophilia...) hay do yếu tố đông máu đã bị tiêu thụ (hội chứng đông máu rải rác trong lòng mạch, tiêu sợi huyết) hoặc do suy gan nặng không tổng hợp được yếu tố; cũng có thể do trong máu có chất ức chế đông máu nội sinh; APTT cũng kéo dài khi điều trị bằng heparin tiêu chuẩn.

39. THỜI GIAN PROTHROMBIN (Thời gian Quick)

1. Nguyên lý

Máu chống đông bằng natri citrat sẽ được phát động quá trình đông máu theo con đường ngoại sinh khi hồi phục calci và có mặt thromboplastine. Dựa vào đặc tính này, người ta khảo sát thời gian đông của huyết tương sau khi cho thừa thromboplastine calci để đánh giá các yếu tố đông máu đường ngoại sinh (phức hệ prothombine: II, V, VII, X.).

2. Dụng cụ, hoá chất

- Máy phân tích đông máu tự động.
- Hóa chất theo bộ kit phù hợp với từng loại máy.

3. Tiến hành kỹ thuật

- Mẫu huyết tương được bảo quản ở 4oC hoặc nhiệt độ phòng và tiến hành xét nghiệm trong vòng 4 giờ kể từ khi lấy máu. Trường hợp cần kéo dài thời gian bảo quản, mẫu huyết tương cần phải được để ở -20oC hoặc lạnh hơn.

– Hiện nay có các loại máy đang được sử dụng với 2 nguyên lý khác nhau để thực hiện xét nghiệm prothrombin: loại máy với nguyên lý quang học và loại máy với nguyên lý trở kháng dựa vào sự dao động của viên bi để tính thời gian đông máu.

– Đối với mỗi phòng xét nghiệm nên xác lập khoảng tham chiếu, giá trị chứng thời gian prothrombin

– Mẫu máu kiểm tra được chống đông bằng natri citrat 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ chống đông là 1/10. Ly tâm tốc độ 3000v/p trong 10 phút.

– Tiến hành xét nghiệm trên máy phân tích đông máu tự động theo protocol riêng của từng máy.

- Hàng ngày trước khi tiến hành xét nghiệm, phải tiến hành kỹ thuật với máu chứng trước để lấy thông số chuẩn và kiểm tra hoá chất, sinh vật phẩm.

4. Kết quả

- Tuỳ theo loại thromboplastin sử dụng mà mỗi phòng xét nghiệm có trị số bình thường khác nhau. Thời gian Quick bình thường khi sử dụng thromboplastin có hoạt tính đầy đủ thường từ 11 đến 13 giây.

- Kết quả của xét nghiệm này có thể biểu thị bằng thời gian (giây) hoặc bằng phần trăm. Ngày nay, để tránh những sai sót kết quả gây ra do sử dụng các loại Thromboplastin khác nhau, Ủy ban chuẩn hoá Quốc tế của Tổ chức Y tế Thế giới yêu cầu mỗi loại Thromboplastin phải ghi rõ I.S.I (International Sensitivity Index)(chỉ số độ nhạy quốc tế).

- Cách tính tỷ lệ prothrombin từ thời gian Quick:

+ Trường hợp có bảng tính sẵn kèm theo với lô thromboplastin sử dụng: việc tính sẽ đơn giản sau khi xác định thời gian Quick của chúng và bệnh.

+ Trường hợp không có bảng kèm theo: sử dụng công thức

$$(T'' + T') \times 100 / \{T \text{ bệnh} - [T' - (T'' - T')]\} = \% \text{ prothrombin}$$

Trong đó: T'' : thời gian đông của chúng 50%

T' : thời gian đông của chúng 100%

- Cách tính INR (International Normalized Ratio)(chỉ số bình thường hóa quốc tế):

$$INR = (PT \text{ bệnh} / PT \text{ chúng})^{ISI}$$

Nó thường được sử dụng trong theo dõi bệnh nhân thay van tim nhân tạo, thường người ta duy trì tỷ số này trong khoảng từ 2 đến 3, vì nếu thấp hơn 2 sẽ tăng nguy cơ tắc van do cục máu đông. Còn nếu tỷ số này cao hơn 3 sẽ tăng nguy cơ chảy máu

- Thời gian Quick kéo dài trong các trường hợp rối loạn đường đông máu ngoại sinh (giảm nồng độ các yếu tố phức hệ prothrombin do: suy chức năng gan hoặc thiếu vitamin K, điều trị chống đông bằng dẫn xuất Coumarin).

- Xét nghiệm này nhạy nhất với sự thiếu hụt prothrombin.

5. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả

- Do mẫu huyết tương kiểm tra: đông đặc, sai tỷ lệ chống đông
- Do kỹ thuật: tiến hành kỹ thuật sau 4 giờ kể từ khi lấy máu với mẫu máu được bảo quản ở nhiệt độ phòng.
- Do mẫu huyết tương chứng: không lấy pool hoặc lấy pool từ một lượng ít hơn 5 người.
- Do chất lượng thromboplastin không đảm bảo hoặc sử dụng thromboplastin đã bảo quản lâu sau khi chuẩn bị.

40. ĐỊNH LƯỢNG FIBRINOGEN

1. Nguyên lý

Đo thời gian đông của huyết tương bệnh nhân (được pha loãng tỷ lệ 1/10) sau khi cho một lượng thừa thrombin. Thời gian đông được đối chiếu với đường cong chuẩn có sẵn sẽ biết được nồng độ fibrinogen trong huyết tương của bệnh nhân.

Đường cong chuẩn được thiết lập bằng cách: pha dung dịch fibrinogen chuẩn (biết trước nồng độ) ở các nồng độ khác nhau rồi đo thời gian đông ở mỗi nồng độ sau khi cho thừa thrombin. Từ đó ta vẽ được một đường cong chuẩn nồng độ fibrinogen- thời gian.

2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích đông máu tự động.
- Hóa chất thrombin và đệm barbiton theo bộ kit phù hợp với từng loại máy.

3. Tiến hành kỹ thuật

- Mẫu máu kiểm tra được chống đông bằng natri citrat 3,2% hoặc 3,8% với tỷ lệ chống đông là 1/10; ly tâm tốc độ 3000v/p trong 10 phút.
- Tiến hành xét nghiệm trên máy phân tích đông máu tự động theo protocol riêng của từng máy.

4. Đọc kết quả

- Thời gian đông được đối chiếu trên đường thẳng chuẩn. Sau đó nhân với 10 để có lượng fibrinogen trong huyết tương bệnh nhân. Nếu thời gian đông không nằm trong giới hạn đường chuẩn thì cần pha mẫu xét nghiệm ở các nồng độ khác cho thích hợp (đặc hay loãng hơn 1/10) và nhân theo tỷ lệ pha loãng mới này.
- Nồng độ fibrinogen bình thường từ 2-4g/l.

5. Nguyên nhân sai lầm

- Do mẫu bệnh phẩm: mẫu máu bị đông, sai tỷ lệ chống đông, không đúng chất chống đông, hoặc chất chống đông bị hỏng; huyết tương đục hoặc vỡ hồng cầu (đối với máy phân tích tự động theo nguyên lý trở kháng đã khắc phục được nhược điểm này); mẫu máu để quá 4 giờ kể từ khi lấy máu mới tiến hành xét nghiệm.

- Do phương tiện, hoá chất: do chất lượng hoá chất không đảm bảo hoặc đã quá thời gian bảo quản; mẫu huyết tương chứng không lấy tập hợp hoặc lấy tập hợp từ một lượng ít hơn 5 người; ống nghiệm sử dụng không sạch; pipet hỏng, không đảm bảo đúng thể tích; máy phân tích đông máu không đảm bảo tính chuẩn xác và độ lặp lại.

- Do kỹ thuật: không đảm bảo đúng quy trình kỹ thuật; đọc và tính kết quả sai...

6. Ý nghĩa

- Xét nghiệm định lượng fibrinogen được chỉ định trong trường hợp:
- Thăm dò toàn bộ quá trình đông máu: bởi vì fibrinogen là một cơ chất tham gia phản ứng của cả quá trình các xét nghiệm đông máu.
- Phát hiện những bất thường bẩm sinh hoặc mắc phải của fibrinogen.
- Theo dõi liệu pháp điều trị tiêu huyết khối: liệu pháp tiêu fibrin.
- Chỉ định thăm dò phản ứng tiêu thụ có hoặc không có tiêu fibrin.
- Phát hiện sự tăng nồng độ fibrinogen khi có nguy cơ bệnh lý mạch ví dụ như nhồi máu cơ tim cấp, đột quỵ, hoặc như là kết quả của một phản ứng cấp tính.
- Ngoài ra định lượng fibrinogen còn dùng theo dõi viêm nhiễm, điều trị.

41. KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ ABO (Trên đá men)

1. Nguyên lý:

Phương pháp huyết thanh mẫu: Dùng huyết thanh đã biết trước kháng thể, cho phản ứng với hồng cầu của bệnh nhân để xác định kháng nguyên trên bề mặt hồng cầu, từ đó xác định nhóm máu của bệnh nhân.

Phương pháp hồng cầu mẫu: Dùng hồng cầu đã biết trước kháng nguyên cho phản ứng với huyết thanh của bệnh nhân để xác định kháng thể trong huyết thanh, từ đó xác định nhóm máu của bệnh nhân.

Theo quy chế truyền máu 2007 thì việc định nhóm máu ABO phải được thực hiện bằng cả hai phương pháp.

2. Chuẩn bị:

2.1. Dụng cụ:

- Đá men (giấy định nhóm máu), ống nghiệm, pipet, đĩa thủy tinh, máy ly tâm.

2.2. Hóa chất:

- NaCl 0,9%
- Huyết thanh mẫu (anti A, anti B, anti AB)
- Hồng cầu mẫu 10% và 5% (HCM A, HCM B, HCM O).

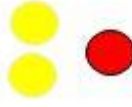
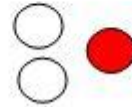
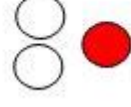
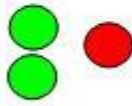
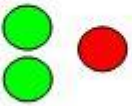
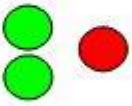
2.3. Bệnh phẩm

- Lấy máu tĩnh mạch cả chống đông và không chống đông.

3. Tiến hành:

3.1. Định nhóm máu trên đá men (hoặc giấy định nhóm máu).

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch, 1ml chống đông bằng EDTA, 2ml không chống đông.
- Pha hồng cầu bệnh nhân theo tỉ lệ 10% trong NaCl 0,9% từ ống chống đông (1 giọt hồng cầu + 9 giọt NaCl 0,9%) .
- Ly tâm tách huyết thanh từ ống không chống đông.
- Chuẩn bị đá men với 7 vị trí 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7.

Họ tên bệnh nhân:		Nhóm máu:	
Anti A	Anti B	Anti AB	NaCl 0,9%
1 	2 	3 	4 
HCM A	HCM B	HCM O	
5 	6 	7 	

- Nhỏ vào các vị trí 1, 2, 3, 4 mỗi vị trí 2 giọt huyết thanh mẫu tương ứng.
- Nhỏ vào các vị trí 5, 6, 7 mỗi vị trí 2 giọt huyết thanh bệnh nhân.
- Nhỏ vào các vị trí 1, 2, 3, 4 mỗi vị trí 1 giọt hồng cầu 10% của bệnh nhân.
- Nhỏ vào các vị trí 5, 6, 7 mỗi vị trí 1 giọt hồng cầu mẫu 10% tương ứng.
- Dùng đũa thủy tinh, trộn đều các vị trí thành các hình tròn có đường kính từ 2- 3 cm.
- Lắc tròn đều viên đá men trong khoảng 2 – 3 phút.
- Đọc kết quả dựa trên hiện tượng ngưng kết hoặc không ngưng kết.
- + Nếu ngưng kết: Các hồng cầu sẽ đứng chụm với nhau thành một đám hay nhiều đám
- + Nếu không ngưng kết: Các hồng cầu đứng rời rạc.
- Bình thường sẽ có 4 trường hợp xảy ra tương ứng với 4 nhóm máu là:

Trường hợp	Anti A	Anti B	Anti AB	NaCl 0,9%	Nhóm máu
1	(+)	(+)	(+)	(-)	AB
2	(+)	(-)	(+)	(-)	A
3	(-)	(+)	(+)	(-)	B
4	(-)	(-)	(-)	(-)	O
Trường hợp	HCM A	HCM B	HCM O		Nhóm máu
1	(-)	(-)	(-)		AB
2	(-)	(+)	(-)		A
3	(+)	(-)	(-)		B
4	(+)	(+)	(-)		O

42. KỸ THUẬT ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh

1. Nguyên lý:

Dùng huyết thanh chứa kháng thể anti D cho phản ứng với hồng cầu bệnh nhân để xác định kháng nguyên D trên bề mặt màng hồng cầu.

2. Chuẩn bị:

2.1. Dụng cụ:

- Đá men, ống nghiệm, pipet, nồi cách thủy, máy ly tâm.

2.2. Hóa chất:

- NaCl 0,9%
- Anti D – IgM
- Anti D – IgG/IgM.
- Huyết thanh Coombs (kháng kháng thể, kháng globulin người)

2.3. Bệnh phẩm

- Lấy máu, quan trọng hồng cầu của bệnh nhân

3. Tiến hành:

3.1. Định nhóm máu trên đá men (sử dụng hóa chất Anti D IgM hoặc IgG/IgM).

- Lấy máu, chống đông bằng EDTA.
- Pha hồng cầu bệnh nhân theo tỉ lệ 35 – 45% trong NaCl 0,9% hoặc dùng ngay máu toàn phần.
- Đánh số 2 vị trí trên đá men 1, 2.
- Vị trí 1 nhỏ 2 giọt Anti D (IgM hoặc IgG/IgM).
- Vị trí 2 nhỏ 2 giọt NaCl 0,9% (làm chứng âm).
- Nhỏ vào mỗi vị trí một giọt hồng cầu bệnh nhân đã pha.
- Dùng đũa thủy tinh trộn đều, lắc khoảng 2 – 3 phút.
- Đọc kết quả.

- + Nếu vị trí 1 ngưng kết -> bệnh nhân có kháng nguyên D
- + Nếu vị trí 1 không ngưng kết -> bệnh nhân không có kháng nguyên D, khi đó cần xác định rõ bệnh nhân có kháng nguyên D yếu (Du) hay Rh (-) bằng phản ứng trên ống nghiệm.

3.2. Định nhóm máu trên ống nghiệm (sử dụng hóa chất Anti D IgG/IgM)

- Pha hồng cầu bệnh nhân 5%.
- Chuẩn bị 2 ống nghiệm đánh số 1, 2.
- O1: nhỏ 2 giọt Anti D (IgG/IgM).
- O2: nhỏ 2 giọt NaCl 0,9%.
- Thêm vào mỗi ống 1 giọt hồng cầu 5% bệnh nhân đã pha.
- Lắc đều, ly tâm, đọc kết quả.
- + Nếu ống 1 ngưng kết -> bệnh nhân có kháng nguyên D hay Rh(+).
- + Nếu ống 1 không ngưng kết -> chuyển sang giai đoạn 2.

Giai đoạn 2:

- Ủ 2 ống nghiệm trong nồi cách thủy 37°C/ 30 - 45'.
- Ghi kết quả sau đó chuyển sang giai đoạn 3.

Giai đoạn 3:

- Rửa 2 ống nghiệm 3 lần bằng NaCl 0,9%:
- + Thêm NaCl 0,9% vào 2 ống nghiệm, lắc đều, ly tâm 1500 vòng/phút x 5 phút, đổ phần dịch trong.
- + Tiếp tục bổ sung NaCl 0,9% ly tâm, tách dịch trong.
- + Làm như vậy 3 lần để thu được cặn hồng cầu sạch.
- Nhỏ vào mỗi ống 2 giọt huyết thanh Coombs (kháng kháng thể).
- Lắc đều, ly tâm 1000 vòng/phút.
- Lắc đều, đọc kết quả.
- + Nếu ống 1 ngưng kết -> bệnh nhân có kháng nguyên D yếu (hay Du).
- + Nếu ống 1 không ngưng kết -> Bệnh nhân có nhóm máu Rh(-).

4. Các yếu tố ảnh hưởng kết quả xét nghiệm:

- Chất lượng huyết thanh Anti D.
- Chất lượng huyết thanh Coombs
- Nhầm lẫn về thủ tục hành chính.

43. NGUYÊN LÝ TỔNG PHÂN TÍCH TẾ BÀO MÁU NGOẠI VI BẰNG PHƯƠNG PHÁP LASER

1. NGUYÊN TẮC PHÂN TÍCH HỒNG CẦU (RBC)

RBC trước tiên được xử lý cầu hóa đẳng thể tích (isovolumetrically sphered) bằng SDS và cố định bằng Glutaraldehyde nhằm loại trừ sai sót có thể có do những tư thế khác nhau của hồng cầu khi đi ngang điểm đo. Sau khi xử lý, hồng cầu (và cả tiểu cầu) được đổi thành một hình cầu có cùng thể tích như ban đầu, nhưng có thể đo trong mọi tư thế mà vẫn phản ánh đúng thể tích hồng cầu (red cell volume).

Khi đi ngang điểm đo (flowcell), xử dụng nguồn sáng là laser diod 670nm, và phân tích tán xạ (scattered light) ở hai góc : góc hẹp (2-3o) phản ánh kích thước vật thể - tức là thể tích hồng cầu (CV : Cell Volume), và góc rộng (5-15o) phản ánh hàm lượng hemoglobin trong hồng cầu (CH : Cell Hemoglobin). Tín hiệu thu được trên mỗi góc là một cặp dữ liệu liên quan đến mỗi hồng cầu đi ngang qua điểm đo (nguyên tắc khảo sát từng tế bào – cell-by-cell) và được đánh dấu trên biểu đồ theo lý thuyết Mie.

Thông qua dữ liệu ghi nhận được, sẽ đưa ra được các thông số về hồng cầu như sau :

- RBC (số lượng hồng cầu) : dựa trên tổng số tín hiệu đếm được trong ngưỡng quy định.
- CV và CH
- HC (nồng độ hemoglobin hồng cầu, tính bằng g/dL) = CH / CV
- HCT (khối thể tích hồng cầu) : là kết quả dựa trên tổng các CV.
- MCV (thể tích trung bình hồng cầu) : trung bình cộng của các CV.
- MCH (hàm lượng hemoglobin trung bình hồng cầu) : là kết quả dựa trên tổng các CH.

- CHCM (tương đương MCHC) : trung bình cộng của các CH.
- RDW (độ phân bố thể tích hồng cầu)
- HDW (độ phân bố nồng độ hemoglobin)
- CHDW (độ phân bố hàm lượng hemoglobin)

Đặc biệt lưu ý là 3 thông số MCV, MCH và CHCM là các thông số đo trực tiếp, chứ không tính toán dựa trên hemoglobin như đa số các hệ thống huyết học dùng nguyên tắc kháng trở điện.

Ngoài biểu đồ RBC chính trình bày sự phân bố và tương quan các yếu tố CH và CV, còn có các biểu đồ trình bày sự phân bố của CV, CH và HC. Trên biểu đồ chính sẽ thể hiện sự xếp loại các tế bào theo tiêu chuẩn :

- Micro (hồng cầu nhỏ): khi $CV < 60 \text{ fL}$
- Macro (hồng cầu to): khi $CV > 120 \text{ fL}$
- Hypo (hồng cầu nhược sắc): Khi $CH < 28 \text{ G/dL}$
- Hyper (hồng cầu ưu sắc): Khi $CH > 41 \text{ G/dL}$

Đồng thời có thể xem được các thông số phụ là % số tế bào được xếp loại là micro, macro, hypo và hyper.

Dựa trên các thông số % phụ này mà các cảnh báo về hình thái tế bào (morphology flag) sẽ được đưa ra khi thỏa các điều kiện quy định trước cho các loại cảnh báo này : ANISO (hồng cầu to nhỏ không đều), MACRO, MICRO, HCVAR (nồng độ hemoglobin hồng cầu không đều), HYPO, HYPER.

Ngoài ra còn các cảnh báo hình thái khác liên quan đến hình dạng bất thường của hồng cầu hoặc các loại nhiễu có thể có : RBC fragments (mảnh vỡ hồng cầu), RBC Ghosts (bóng ma hồng cầu), NRBC (hồng cầu nhân). Ghi chú : các ngưỡng quy định cho cảnh báo hình thái đều có thể thay đổi được do người sử dụng.

2. NGUYÊN TẮC PHÂN TÍCH HEMOGLOBIN

Phương pháp phân tích thông thường là đo quang ở bước sóng 546 nm sau khi ly giải hồng cầu bằng thuốc thử cyanmethemoglobin (hoặc thuốc thử tương đương thay thế không chứa cyanide).

Điểm đặc biệt là các thông số MCH và MCHC (tính toán từ Hemoglobin đo được) được kiểm tra chéo với các thông số CH và CHCM (đo trực tiếp trên tế bào không ly giải). Hệ thống ADVIA 120 sẽ lưu ý người sử dụng khi hai số đo có sự chênh lệch quá một giới hạn nhất định và thường do một trong các nguyên nhân :

- Mẫu thử có nhiều mỡ (lipidemic), bilirubin hay chilomicron, mẫu thử có số lượng bạch cầu quá cao ($> L$), tiểu cầu bị kết cụm, mẫu thử trẻ sơ sinh... làm sai lệch kết quả đo quang. $\mu 60 \times 10^3/$
- Sự cố kỹ thuật trên một trong 2 kênh hemoglobin hoặc RBC.

Lưu ý trên đây sẽ giúp người sử dụng có những biện pháp thích hợp nhằm tìm ra nguyên nhân.

3. NGUYÊN TẮC PHÂN TÍCH HỒNG CẦU LƯỚI (RETICULOCYTE)

Phương thức xử lý và phân tích tương tự như khi khảo sát hồng cầu thông thường, nhưng hồng cầu lưới được nhuộm với chất nhuộm màu nucleic acid (Oxazine 750) và khảo sát độ hấp thu chất màu này cùng trên nguồn sáng là laser diod 670nm, đối chiếu trực tiếp với kích thước và hàm lượng hemoglobin của hồng cầu lưới.

Kết quả khảo sát được cho phép đưa ra được các thông số về hồng cầu lưới như sau :

- Retic (Reticulocyte - hồng cầu lưới) : số lượng tuyệt đối và phần trăm % so với tổng số hồng cầu.
- CHr (hàm lượng hemoglobin hồng cầu lưới).
- MCVr (thể tích trung bình hồng cầu lưới).
- CHCMr (nồng độ hemoglobin trung bình hồng cầu lưới).

Biểu đồ Retic chính trình bày sự phân bố và tương quan của hồng cầu lưới so với hồng cầu bình thường (HC lưới có màu xanh sáng so với HC bình thường màu đỏ); biểu đồ hấp thu Oxazine 750 cho phép đánh giá chất lượng của hồng cầu lưới ở các mức L, M và H (đánh giá độ trưởng thành của HC lưới tùy sự hiện diện của nhân hoặc lưới RNA còn lại trong hồng cầu) cũng như các thông số phụ về % các nhóm L, M và H này. Các biểu đồ phụ trình bày sự phân bố các yếu tố CHr, CHCMr và CVr, có đối chiếu với sự phân bố của hồng cầu bình thường trên cùng thang đo cho dễ nhận định (HC lưới có màu xanh so với HC bình thường màu đỏ).

4. NGUYÊN TẮC PHÂN TÍCH BẠCH CẦU – KÊNH BASOPHIL-LOBULARITY

Phương thức xử lý : Dựa trên nguyên tắc được phát hiện là basophil có xu hướng đề kháng sự ly giải bởi một hỗn hợp acid và chất surfactant (1) ; máu toàn phần được trộn với thuốc thử (phtaleic acid & Ssurfactant). Hồng cầu bị ly giải và tế bào chất của tất cả các loại bạch cầu khác – ngoại trừ basophil – bị loại khỏi tế bào. Hỗn hợp mẫu thử được phân tích trên cùng hệ thống quang học như phân tích hồng cầu : nguồn sáng là laser diod 670nm, phân tích tán xạ góc hẹp 2-3^o phản ánh kích thước bạch cầu và góc rộng 5-15^o phản ánh độ phức tạp của nhân bạch cầu (số múi nhân).

Kết quả được trình bày trên biểu đồ Baso, đối chiếu kích thước bạch cầu và độ phức tạp của nhân, xử dụng ranh giới động (tìm điểm lõm xuống thấp nhất phân chia hai quần thể tế bào khác nhau) để ghi nhận số lượng basophil, số tế bào đơn nhân và đa nhân.

5. NGUYÊN TẮC PHÂN TÍCH BẠCH CẦU – KÊNH PEROXIDASE

Để bách phần đầy đủ các thành phần bạch cầu, thì thông tin của riêng kênh Basophil-Lobularity rõ ràng là chưa đủ, do đó cần phối hợp thêm một kênh phân tích khác là kênh Peroxidase.

Men peroxidase hiện diện và hoạt động ở nhiều loại bạch cầu khác nhau. Dưới sự hiện diện của hydrogen peroxide và một chất màu nhận electron (khử) thích hợp, peroxidase tạo ra một chất màu đậm bên trong bạch cầu. Sự cải tiến kỹ thuật cố định tế bào cho phép phân lập rõ Monocyte khỏi nhóm Neutrophil cũng như nhóm LUC (Large Unstained Cell : các tế bào to không bắt màu), do đó kênh Peroxidase cho phép đếm chính xác 3 nhóm bạch cầu bắt màu (Neutrophil, Eosinophil và Monocyte) và 2 nhóm không bắt màu (Lymphocyte và LUC) :

- Neutrophil và Eosinophil được nhận biết do có hoạt tính peroxidase rất cao, nhưng có thể phân biệt hai loại tế bào này nhờ sự khác biệt về kích thước.
- Monocyte chứa một hàm lượng thấp peroxidase, nên có thể phân biệt được thành một quần thể riêng biệt, tách khỏi nhóm LUC, nhưng có thể chồng lấp một phần với một số tế bào Neutrophil chứa quá ít peroxidase.
- Quần thể Lymphocyte chứa cả Lymphocyte lẫn Basophil, do đó cần phải trừ ra từ số lượng Basophil đếm được trên kênh Basophil-Lobularity.

Kỹ thuật : máu toàn phần được lần lượt trộn với 3 thuốc thử. Ở bước 1 (Perox 1), hồng cầu bị ly giải và các tế bào bạch cầu được cố định. Ở bước 2 (Perox 2 và Perox 3), Neutrophil, Eosinophil và Monocyte được nhuộm màu peroxidase trong khi Lymphocyte, Basophil và LUC không bắt màu. Hỗn hợp mẫu thử được phân tích trên hệ thống quang học với nguồn sáng tungsten, phân tích tán xạ góc hẹp 2-30 phản ánh kích thước bạch cầu và độ hấp thu quang phản ánh độ bắt màu (hoạt tính) men peroxidase của bạch cầu. Kết quả được trình bày trên biểu đồ Perox, đối chiếu kích thước bạch cầu và hoạt tính men peroxidase của bạch cầu, xử dụng ranh giới động (tìm điểm lõm xuống thấp nhất phân chia hai quần thể tế bào khác nhau) để ghi nhận số lượng từng quần thể bạch cầu : Neutrophil, Eosinophil, Monocyte, LUC, và tổng của Lymphocyte + Basophil.

Dữ liệu thu được từ cả 2 kênh Basophil-Lobularity và Peroxidase cho phép đưa ra được các thông số về bạch cầu như sau :

- Số lượng bạch cầu : dựa trên số lượng đếm được trên kênh Peroxidase (gọi là thông số WBCP), có so sánh với số lượng đếm được trên kênh Basophil-Lobularity (gọi là thông số WBCB).
- Số lượng tuyệt đối và phần trăm % các thành phần bạch cầu : Neutrophil, Eosinophil, Basophil, Lymphocyte, Monocyte, và LUC.
- Chỉ số múi nhân (LI – Lobularity Index) và chỉ số hoạt tính peroxidase (MPXI – Mean Peroxidase Index)

Ngoài ra còn các cảnh báo hình thái khác liên quan đến sự phân bố bất thường của bạch cầu : LEFT Shift (công thức bạch cầu chuyển trái, do gia tăng số múi nhân của bạch cầu hạt), IG-Immature Granulocyte (bạch cầu hạt chưa trưởng thành, tức là dạng Band), ATYP-Atypical Lymphocyte (lymphocyte không điển hình, đặc trưng thường thấy khi nhiễm siêu vi), BLAST (ngghi ngờ có các tế bào đầu dòng bất thường).

Điểm đặc biệt là hai thông số WBCB và WBCP được kiểm tra chéo với nhau. Hệ thống ADVIA 120 sẽ lưu ý người sử dụng khi hai số đo có sự chênh lệch quá một giới hạn nhất định và thường do một trong các nguyên nhân :

- Bệnh lý khiếm khuyết men Myelo-peroxidase di truyền hay mắc phải, có thể gặp ở tần suất cho đến 0.5%. Trong trường hợp này sẽ có xu hướng giảm WBCP.
- BUN (Urea Nitrogen) máu rất cao ($> 200\text{-}250\text{ mg/dL}$) làm ly giải không hoàn toàn hồng cầu, nên có xu hướng làm tăng WBCP.

6. NGUYÊN TẮC PHÂN TÍCH TIỂU CẦU

Phương thức xử lý ban đầu và phân tích tiểu cầu cũng tương tự như khi khảo sát hồng cầu (xử dụng nguồn sáng là laser diode 670nm, và phân tích tán xạ), nhưng tiểu cầu được khảo sát 2 chiều ở ngưỡng thấp, phân tích góc hẹp ($2\text{-}3^\circ$) phản ánh kích thước tiểu cầu (volume), còn phân tích góc rộng ($5\text{-}15^\circ$) phản ánh mật độ tế bào (Cell density). Tín hiệu thu được trên mỗi góc là một cặp dữ liệu liên quan

đến mỗi tiểu cầu đi ngang qua điểm đo (nguyên tắc khảo sát từng tế bào – cell-by-cell) và được đánh dấu trên biểu đồ theo lý thuyết Mie như khảo sát hồng cầu.

Điểm đặc biệt là phương pháp này không loại trừ các tiểu cầu to (large platelets), nhưng để phân tích và đếm số lượng tiểu cầu to sẽ có nguy cơ nhầm lẫn với các thành phần khác như : mảnh hồng cầu, bóng ma hồng cầu... ; cũng như kích thước của tiểu cầu to thường chồng lấn với hồng cầu, đặc biệt là hồng cầu nhỏ. Do đó cần thêm yếu tố mật độ tế bào, và tiêu chí để phân biệt tiểu cầu thực sự so với các thành phần khác được căn cứ theo bảng dưới đây :

Do đó, kết quả báo cáo số lượng tiểu cầu sẽ được tính chung với số tiểu cầu to đếm được, nhưng đã loại trừ các thành phần không phải là tiểu cầu. Ngoài ra khi số lượng tiểu cầu to vượt quá một giới hạn nhất định, sẽ có lưu ý hình thái Large Platelets hay Platelet Clump tương ứng. Tất nhiên là khi có mảnh hồng cầu, bóng ma hồng cầu... với số lượng đáng kể thì cũng sẽ có lưu ý hình thái tương ứng (RBC Fragments, RBC Ghosts).

CHƯƠNG IV: VI SINH

44. TEST THỬ NHANH HBSAG

I. MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Kit thử chẩn đoán Viêm gan B (HBsAg) là dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch định tính phát hiện sự có mặt của kháng nguyên vi rút Viêm gan B trong huyết thanh hoặc huyết tương.

II. TỔNG QUAN

Bệnh viêm gan do vi rút là căn bệnh chủ yếu liên quan đến gan. Hầu hết các trường hợp cấp tính của bệnh viêm gan do virút là do các virút Viêm gan A, Viêm gan B (HBV) hoặc Viêm gan C gây ra. Phức hợp kháng nguyên (complex antigen) tìm thấy trên bề mặt của HBV gọi là HBsAg. Những nghiên cứu trước đây còn nhận diện cả kháng nguyên Australia hay còn gọi là kháng nguyên Au. Sự có mặt của HBsAg trong huyết thanh hoặc huyết tương cho thấy dấu hiệu của sự bị lây nhiễm virút Viêm gan B cấp hoặc mãn tính, HBsAg bị phát hiện từ 2 đến 4 tuần trước khi men gan ALT có biến đổi khác thường và từ 3 đến 5 tuần trước khi có triệu chứng của bệnh hoặc triệu chứng vàng da. HBsAg có 4 nhóm phụ cơ bản: adw, ayw, adr và ayr. Do tính không đồng nhất định thức của kháng nguyên, nên có 10 kiểu của vi rút Viêm gan B (serotypes).

Kit thử chẩn đoán Viêm gan B (HBsAg) là dụng cụ xét nghiệm nhanh định tính phát hiện sự có mặt của HBsAg trong huyết thanh hoặc huyết tương. Kit thử này sử dụng sự hoá hợp của các kháng thể đơn dòng và đa dòng vô tính để phát hiện một cách có chọn lọc nồng độ lên cao của HBsAg trong huyết thanh hoặc huyết tương.

III. NGUYÊN LÝ HOẠT ĐỘNG

Kit thử chẩn đoán Viêm gan B (HBsAg) là dụng cụ xét nghiệm sắc ký miễn dịch định tính bằng phương pháp dòng chảy một chiều để phát hiện sự có mặt của

kháng nguyên vi rút Viêm gan B trong huyết thanh hoặc huyết tương. Màng kit thử được phủ một lớp kháng thể kháng HBsAg ở vùng kết quả. Trong quá trình làm xét nghiệm, mẫu huyết thanh hoặc huyết tương phản ứng với các phần tử mang theo kháng thể kháng HBsAg. Hỗn hợp tạo thành thấm theo màng di chuyển hướng lên nhờ các mao dẫn, gặp và phản ứng kết tủa màu với các kháng thể kháng HBsAg trên lớp màng và tạo ra vạch màu. Sự có mặt của vạch màu ở vùng kết quả trên kit thử cho biết kết quả dương tính, ngược lại trong trường hợp không có vạch màu là kết quả âm tính. 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 khẳng định rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

IV. THÀNH PHẦN CHÍNH

- Anti-HBsAg
- Kháng thể kháng HBsAg

V. CẢNH BÁO VÀ PHÒNG NGỪA

- Kit thử HBsAg là dụng cụ chỉ chuyên sử dụng cho việc xét nghiệm chẩn đoán. Không sử dụng kit thử đã hết hạn sử dụng.
- Không ăn, không uống hoặc hút thuốc trong khu vực làm xét nghiệm (khu vực có mẫu phẩm và bộ kit thử)
- Thận trọng với tất cả các mẫu phẩm vì chúng có chứa tác nhân lây nhiễm. Tuân thủ mọi lời cảnh báo để tránh các rủi ro nhiễm trùng trong suốt quá trình xét nghiệm. Tuân thủ các quy định về tiêu huỷ mẫu phẩm.
- Mặc đồ bảo hộ y tế như áo choàng, găng tay sử dụng một lần, bảo vệ mắt trong quá trình xét nghiệm.

- Độ ẩm và nhiệt độ không đảm bảo có thể ảnh hưởng không tốt đến kết quả xét nghiệm.

VI. HẠN DÙNG:

Thời hạn sử dụng của Kit thử chẩn đoán Viêm gan B (HBsAg) là 24 tháng kể từ ngày sản xuất nếu được bảo quản đúng quy định và trong túi nhôm kín có chất chống ẩm.

VII. BẢO QUẢN VÀ ĐỘ ỔN ĐỊNH:

Kit thử có thể bảo quản ở nhiệt độ phòng hoặc làm lạnh (2-30°C). Kit thử giữ được tính ổn định cho đến ngày hết hạn sử dụng in trên túi đựng sản phẩm. Kit thử phải được bảo quản trong túi hàn kín cho đến khi lấy ra sử dụng. Không được làm đông băng sản phẩm.

VIII. LẤY VÀ CHUẨN BỊ MẪU PHẨM

- Kit thử chẩn đoán Viêm gan B (HBsAg) sử dụng mẫu huyết thanh hoặc huyết tương để làm xét nghiệm.

- Tách huyết thanh hoặc huyết tương càng nhanh càng tốt để tránh hiện tượng tan huyết (hemolysis). Chỉ được dùng các mẫu phẩm sạch, không bị hiện tượng tan huyết (non- hemolyzed).

- Xét nghiệm phải được tiến hành ngay sau khi lấy mẫu. Không được để mẫu phẩm ở nhiệt độ phòng trong thời gian dài. Mẫu huyết thanh và huyết tương có thể bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C trong vòng 3 ngày. Muốn bảo quản lâu hơn, mẫu phẩm phải được giữ ở nhiệt độ thấp hơn -20°C. Mẫu máu toàn phần lấy từ tĩnh mạch có thể bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C trong vòng 2 ngày. Không được làm đông băng mẫu máu toàn phần.

- Để các mẫu phẩm ở nhiệt độ phòng trước khi làm xét nghiệm. Các mẫu đông băng phải được để cho tan ra hoàn toàn và được lắc đều trước khi làm xét nghiệm. Không lặp lại việc đông băng và làm tan đối với các mẫu phẩm.

- Nếu mẫu phẩm cần phải di chuyển, chúng phải được đóng gói và vận chuyển phù hợp với các quy định an toàn về vận chuyển các chất có nguy cơ lây nhiễm cao.

IX. DỤNG CỤ

1. Dụng cụ đi kèm

- Các kit thử
- Các ống nhỏ mẫu dùng một lần
- Các phụ kiện khác
- Hướng dẫn sử dụng

2. Dụng cụ không đi kèm nhưng cần có

- Dụng cụ đựng mẫu phẩm
- Máy li tâm
- Thiết bị đo thời gian

X. HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Để kit thử, mẫu phẩm, dung dịch đệm, v.v... ở nhiệt độ phòng (15-30°C) trước khi làm xét nghiệm.

1. Lấy kit thử ra khỏi túi kín đựng sản phẩm và sử dụng kit thử càng nhanh càng tốt. Để đạt kết quả tốt nhất, toàn bộ quá trình xét nghiệm phải được hoàn thành trong vòng 1 giờ kể từ khi mở túi đựng sản phẩm..

2. Cầm kit thử sao cho mũi tên trên kit thử chỉ hướng xuống: nhúng kit thử theo phương thẳng đứng vào mẫu phẩm (huyết thanh hoặc huyết tương) đựng trong ống nghiệm và ngâm ít nhất 15 giây. Tiếp theo, đặt kit thử trên một mặt phẳng nằm ngang không hút nước và bắt đầu tính thời gian.

Lưu ý: không nhúng kit thử sâu quá vạch tối đa (MAX line - đầu mũi tên trên que thử)

3. Chờ đến khi các vạch đỏ xuất hiện trên kit thử. Đọc kết quả trong vòng 15 phút. Không sử dụng kết quả quá 20 phút.

XI. ĐỌC VÀ DIỄN GIẢI KẾT QUẢ

DƯƠNG TÍNH*: Xuất hiện hai vạch đỏ rõ rệt: một ở vùng chúng gọi là **vạch chứng** ©, vạch kia ở vùng kết quả gọi là **vạch kết quả** (T).

Lưu ý: Độ đậm màu đỏ của **vạch kết quả** (T) sẽ khác nhau phụ thuộc vào nồng độ của HBsAg có trong mẫu phẩm. Vì vậy, bất cứ độ mờ nào ở **vạch kết quả** (T) cũng đều được coi là dương tính.

ÂM TÍNH: Xuất hiện chỉ một **vạch chứng** ©. Không thấy xuất hiện **vạch kết quả** (T) dù đậm hay mờ.

KẾT QUẢ KHÔNG CÓ GIÁ TRỊ: Không thấy xuất hiện **vạch chứng** ©.

Nguyên nhân thường gặp là do lượng mẫu phẩm không đủ hoặc thao tác xét nghiệm sai. Đọc lại hướng dẫn và làm lại xét nghiệm bằng kit thử mới khác. Nếu như tình trạng vẫn như cũ, hãy liên lạc với Đại lý phân phối để được giải đáp.

XII. HẠN CHẾ CỦA KIT THỬ

1. Kit thử chẩn đoán Viêm gan B (HBsAg) chỉ sử dụng cho mục đích chẩn đoán bệnh. Kit thử dùng để phát hiện HBsAg trong huyết thanh hoặc huyết tương, vì vậy, kit thử này không thể sử dụng để xét nghiệm định lượng giá trị cũng như tốc độ tăng lên của nồng độ HbsAg.

2. Kit thử chẩn đoán Viêm gan B (HBsAg) chỉ phát hiện sự có mặt của kháng nguyên bề mặt vi rút Viêm gan B trong mẫu phẩm và không được sử dụng như là phương pháp duy nhất để khám bệnh Viêm gan B do vi rút.

3. Cũng như tất cả các xét nghiệm chẩn đoán bệnh, Cần phải tư vấn với bác sỹ tất cả các kết quả xét nghiệm cùng với các triệu chứng lâm sàng khác.

4. Kit thử chẩn đoán Viêm gan B (HBsAg) không thể phát hiện ra HBsAg khi nồng độ HBsAg trong mẫu phẩm thấp hơn 1 ng/mL. Nếu như kết quả xét nghiệm âm tính mà các triệu chứng lâm sàng vẫn còn, cần phải làm thêm xét nghiệm bằng các phương pháp khác. Vì vậy, kết quả xét nghiệm âm tính không phải bao giờ cũng loại trừ được khả năng đã bị lây nhiễm vi rút Viêm gan B.

45. TEST NHANH DETERMINE HIV 1/2

I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm nhanh Determine HIV dựa trên nguyên lý sắc ký miễn dịch in vitro để xác định định tính kháng thể kháng nguyên của vi rus HIV1/2.

II. CHỈ ĐỊNH

Bệnh nhân tự nguyện, nghi ngờ nhiễm HIV

III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định

IV. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện

- Bác sĩ hoặc KTV khoa xét nghiệm

2. Bệnh phẩm:

- Bệnh phẩm là huyết thanh hoặc huyết tương.
- Lấy 2ml máu tĩnh mạch vào ống serum hoặc ống EDTA
- Ly tâm 3000 vòng/phút trong 5 - 10 phút.

3. Trang thiết bị, dụng cụ:

- Máy ly tâm
- Pipett
- Đầu côn
- Đồng hồ
- Găng tay, mũ áo bảo hộ
- Bút

4. Sinh phẩm:

Trước khi xét nghiệm để sinh phẩm ổn định ở nhiệt độ phòng (18-30°C) khoảng 15 - 30 phút.

5. Phiếu xét nghiệm

Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán.

V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Lấy que thử phù hợp với số lượng mẫu cần xét nghiệm.
- Ghi tên hoặc mã bệnh nhân vào vùng viết mã
- Bóc bỏ tấm vỏ bọc bảo vệ
- Để que thử trên mặt phẳng khô sạch
- Nhỏ mẫu thử: Cho 50 µl mẫu bệnh phẩm vào vị trí đặt mẫu.
Sau 15' đọc kết quả và không đọc kết quả quá 60 phút.

VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Kiểm tra chất lượng mẫu thử: Để đảm bảo giá trị xét nghiệm, vạch control phải xuất hiện.
- Nếu vạch control không chuyển sang màu đỏ hay hồng, test xét nghiệm này không có giá trị và cần phải thực hiện lại xét nghiệm.
- Mẫu không phản ứng: Chỉ có một vạch màu hồng ở vùng contron → Trả kết quả “Âm tính” cho người bệnh.
- Mẫu phản ứng: Xuất hiện 1 vạch màu hồng ở vùng Contron và 1 vạch màu hồng ở vùng patient → đọc kết quả: Determine HIV “Dương tính” → làm bổ sung Serodia HIV → tách mẫu gửi khẳng định

46. HBEAG TEST NHANH

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện kháng nguyên e của virus viêm gan B trong mẫu huyết thanh hoặc huyết tương của người.

2. Nguyên lý

Xét nghiệm nhanh HBeAg dựa trên nguyên lý sắc ký miễn dịch, pha rắn, kiểu “Sandwich” 2 lớp để phát hiện định tính HBeAg.

II. CHUẨN BỊ

Người thực hiện:

Người thực hiện: Nhân viên xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh.

Người nhận định và phê duyệt kết quả: Người thực hiện đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh.

Phương tiện, hóa chất (Ví dụ hoặc tương đương):

Trang thiết bị:

Máy ly tâm, đồng hồ đo thời gian.

Tủ lạnh 4°C – 8°C

Tủ âm sâu (-20°C) hoặc (-70°C) (nếu có)

Pipet đơn kênh thể tích từ 20µl đến 200µl

Bệnh phẩm:

Huyết thanh hoặc huyết tương.

Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất được ví dụ ở trên.

Lấy bệnh phẩm:

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh (Xem Phụ lục).

Tiến hành kỹ thuật:

Bộ sinh phẩm SD Bioline HBeAg (VD hoặc tương đương)

Đề sinh phẩm ổn định nhiệt độ phòng trước khi tiến hành xét nghiệm.

Lấy que xét nghiệm ra khỏi bao nhôm đặt lên bề mặt phẳng. Nhỏ 100 µl huyết thanh hoặc huyết tương vào giếng nhỏ mẫu bệnh phẩm.

Đọc kết quả trong vòng 5 - 20 phút. Không đọc kết quả sau 20 phút.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trên thanh thử xuất hiện 2 vạch màu đỏ: C là vạch kiểm tra (Control line), T là vạch thử nghiệm (Test line) hoặc chỉ có 1 vạch Ghi kết quả như bảng sau:

Hiện tượng	Kết quả
Trên thanh thử xuất hiện 2 vạch màu đỏ	Dương tính
Trên thanh thử xuất hiện 1 vạch (kiểm tra C)	Âm tính
Trên thanh thử không xuất hiện vạch C	Test hỏng

Lưu ý: Độ đậm màu đỏ của **vạch kết quả T** sẽ khác nhau phụ thuộc vào nồng độ HBeAg có trong bệnh phẩm. Vì vậy, bất cứ độ mờ nào xuất hiện ở **vạch kết quả T** đều được coi là **Dương tính**.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ LÝ

Phải làm lại mẫu xét nghiệm mới khi thanh thử bị hỏng (thanh thử không xuất hiện vạch tím tại vạch C).

Tách huyết thanh hoặc huyết tương càng nhanh càng tốt để tránh hiện tượng tan huyết (hemolysis).

Chỉ được dùng các mẫu phẩm sạch, không bị hiện tượng tan huyết (nonhemolyzed). *f*

Xét nghiệm phải được tiến hành ngay sau khi lấy mẫu. Không được để mẫu phẩm ở nhiệt độ phòng trong thời gian dài. Mẫu huyết thanh và huyết tương có thể bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C trong vòng 3 ngày. Muốn bảo quản lâu hơn, mẫu phẩm phải được giữ ở nhiệt độ thấp hơn (-20°C)

47. HCV AB TEST NHANH

I. MỤC ĐÍCH VÀ NGUYÊN LÝ

1. Mục đích

Phát hiện kháng thể kháng HCV có trong huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần của người.

2. Nguyên lý

Xét nghiệm nhanh HCV Ab dựa trên nguyên lý kỹ thuật sắc ký miễn dịch để xác định định tính kháng thể kháng virus Viêm gan C.

II. CHUẨN BỊ

Người thực hiện:

Người thực hiện: Nhân viên xét nghiệm đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh.

Người nhận định và phê duyệt kết quả: Người thực hiện đã được đào tạo và có chứng chỉ hoặc chứng nhận về chuyên ngành Vi sinh.

Phương tiện, hóa chất (Ví dụ hoặc tương đương):

Trang thiết bị:

Máy ly tâm, đồng hồ đo thời gian.

Tủ lạnh 4°C - 8°C

Tủ âm sâu (-20°C) hoặc (-70°C) (nếu có)

Dụng cụ, hóa chất và vật tư tiêu hao (bao gồm nội kiểm, ngoại kiểm):

Bệnh phẩm:

Huyết tương hoặc huyết thanh

Phiếu xét nghiệm

Điền đầy đủ thông tin theo mẫu yêu cầu

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

Các bước tiến hành thực hiện theo phương tiện, hóa chất được ví dụ ở trên.

Lấy bệnh phẩm:

Theo đúng quy định của chuyên ngành Vi sinh (Xem Phụ lục).

Tiến hành kỹ thuật:

Bộ sinh phẩm SD Bioline Anti HCV (VD)

Lấy dụng cụ xét nghiệm ra khỏi túi đựng và đặt lên bề mặt khô, phẳng.

Dùng pipet vi lượng, nhỏ 10 μ l huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần vào giếng mẫu thử (S).

Nhỏ thêm 4 giọt dung môi vào trong giếng mẫu thử.

Ngay sau khi nhỏ mẫu thử, sẽ thấy màu tím di chuyển ngang cửa sổ kết quả nằm ở chính giữa dụng cụ xét nghiệm.

Đọc kết quả trong vòng 5-20 phút.

Chú ý: Không đọc kết quả sau 20 phút.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trên thanh thử xuất hiện 2 vạch màu đỏ hoặc hồng: C là vạch kiểm tra (Control line), T là vạch thử nghiệm (Test line) hoặc chỉ có 1 vạch Ghi kết quả như bảng sau:

Hiện tượng	Kết quả
Trên thanh thử xuất hiện 2 vạch màu tím	Dương tính
Trên thanh thử xuất hiện 1 vạch (kiểm tra C)	Âm tính
Trên thanh thử không xuất hiện vạch C	Test hỏng

Lưu ý: Nếu vạch control không chuyển sang màu tím xét nghiệm này không có giá trị và cần phải thực hiện lại xét nghiệm.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ LÝ

Phải làm lại mẫu xét nghiệm mới khi thanh thử bị hỏng (thanh thử không xuất hiện vạch tím tại vạch C).

Tách huyết thanh hoặc huyết tương càng nhanh càng tốt để tránh hiện tượng tan huyết (hemolysis).

Xét nghiệm phải được tiến hành ngay sau khi lấy mẫu. Không được để mẫu phẩm ở nhiệt độ phòng trong thời gian dài. Mẫu huyết thanh và huyết tương có thể bảo quản ở nhiệt độ 2°C -8°C trong vòng 3 ngày. Muốn bảo quản lâu hơn, mẫu phẩm phải được giữ ở nhiệt độ thấp hơn (-20°C).

MỤC LỤC

Chương 1: hóa sinh	1
1. Định lượng glucose	1
2. Định lượng cholesterol toàn phần	4
3. Định lượng triglycerid.....	7
4. Định lượng hdl-c	11
5. Định lượng ldl-c (low density lipoprotein cholesteron).....	13
6. Đo hoạt độ ast (aspatat transaminase).....	16
7. Đo hoạt độ alt	21
8. Định lượng creatinin	25
9. Định lượng ure	28
10. Định lượng protein toàn phần	31
11. Định lượng acid uric.....	35
12. Định lượng bilirubin toàn phần (bil. T)	38
13. Định lượng bilirubin trực tiếp (bil. D)	41
14. Định lượng albumin	44
15. Định lượng sắt	47
16. Định lượng hba1c (hemoglobin a1c)	50
17. Định lượng các chất điện giải (na ⁺ , k ⁺ , cl ⁻)	54
18. Tổng phân tích nước tiểu.....	58
19. Đo hoạt độ amylase - máu.....	62
20. Định lượng hs-crp	64
21. Đo hoạt độ isoenzym ck-mb	67
22. Định lượng calci toàn phần	71
23. Lấy khí máu động mạch quay làm xét nghiệm	74
Chương 2: MIỄN DỊCH.....	76
24. Định lượng tsh (thyroid stimulating hormone)	76
25. Định lượng t3 (tri iodothyronine).....	79
26. Định lượng t4 (thyroxine)	82
27. Định lượng ft3 (free tri iodothyronine).....	85
28. Định lượng ft4 (free thyroxine).....	88
29. Định lượng c-peptid	91
29.định lượng anti-tpo	106
30. Định lượng trab (tsh receptor antibodies)	109
31. Định lượng anti-tg	114
32. Định lượng afp	117
33. Định lượng tni (troponin i).....	120

34. Định lượng pth (parathyroid hormone)	123
35. Định lượng tg (thyroglobulin)	126
36. Định lượng cortisol	129
37. Định lượng nt - probnp	134
CHƯƠNG III: HUYẾT HỌC	139
38. Thời gian thromboplastin từng phần hoạt hóa	139
39. Thời gian prothrombin (thời gian quick)	141
40. Định lượng fibrinogen	144
41. Kỹ thuật định nhóm máu hệ abo	146
42. Kỹ thuật định nhóm máu hệ rh	149
43. Nguyên lý tổng phân tích tế bào máu ngoại vi bằng phương pháp laser	152
CHƯƠNG IV: VI SINH	159
44. Test thử nhanh hbsag	159
45. Test nhanh determine hiv 1/2	165
46. Hbeag test nhanh	167
47. Hcv ab test nhanh	170