

**BỆNH VIỆN MẮT BÌNH ĐỊNH**  
**HỘI ĐỒNG TUYỂN DỤNG VIÊN CHỨC 2024**



**TÀI LIỆU ÔN TẬP**  
**KỲ TUYỂN DỤNG VIÊN CHỨC NĂM 2024**  
**(Đại học ngành xét nghiệm y học hoặc đại học ngành kỹ thuật xét nghiệm y học)**

**LƯU HÀNH NỘI BỘ**

**Bình Định, 7/2024**

Số: 2017 /QĐ-BYT

*Hà Nội, ngày 09 tháng 6 năm 2014*

**QUYẾT ĐỊNH**

**Về việc ban hành tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học- Truyền máu- Miễn dịch- Di truyền- Sinh học phân tử”**

**BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ**

Căn cứ Luật khám bệnh, chữa bệnh năm 2009;

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

*Xét Biên bản họp của Hội đồng nghiệm thu Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học- Truyền máu- Miễn dịch di truyền- Sinh học phân tử của Bộ Y tế;*

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

**QUYẾT ĐỊNH:**

**Điều 1.** Ban hành kèm theo Quyết định này tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học- Truyền máu- Miễn dịch di truyền- Sinh học phân tử”, gồm 147 quy trình kỹ thuật.

**Điều 2.** Tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học- Truyền máu- Miễn dịch di truyền- Sinh học phân tử” ban hành kèm theo Quyết định này được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

Căn cứ vào tài liệu hướng dẫn này và điều kiện cụ thể của đơn vị, Giám đốc cơ sở khám bệnh, chữa bệnh xây dựng và ban hành tài liệu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Huyết học- Truyền máu- Miễn dịch di truyền- Sinh học phân tử phù hợp để thực hiện tại đơn vị.

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

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

***Nơi nhận:***

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

**KT. BỘ TRƯỞNG  
THỨ TRƯỞNG**

**Đã ký**

**Nguyễn Thị Xuyên**

**DANH SÁCH HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
CHUYÊN NGÀNH HUYẾT HỌC- TRUYỀN MÁU- MIỄN DỊCH-  
DI TRUYỀN- SINH HỌC PHÂN TỬ**

*(Ban hành kèm theo Quyết định số: 2017 /QĐ-BYT ngày 09 tháng 6 năm 2014  
của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

| TT                                | TÊN QUY TRÌNH KỸ THUẬT                                                                                                                  |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Chương I. Huyết học tế bào</b> |                                                                                                                                         |
| 1.                                | Nhuộm hóa học tế bào                                                                                                                    |
| 2.                                | Tìm ấu trùng giun chỉ (phương pháp thủ công)                                                                                            |
| 3.                                | Tìm ký sinh trùng sốt rét (phương pháp thủ công)                                                                                        |
| 4.                                | Nhuộm hoá mô miễn dịch mảnh sinh thiết tuỷ xương                                                                                        |
| 5.                                | Nhuộm sợi xơ trong mô tuỷ xương (Phương pháp sợi Collagen Van Gieson)                                                                   |
| 6.                                | Nhuộm sợi liên võng trong mô tuỷ xương (Phương pháp Gomori)                                                                             |
| 7.                                | Xét nghiệm tế bào trong dịch não tuỷ (phương pháp thủ công)                                                                             |
| 8.                                | Xét nghiệm tế bào trong các loại dịch (phương pháp thủ công)                                                                            |
| 9.                                | Xét nghiệm tế bào nước tiểu (phương pháp thủ công)                                                                                      |
| 10.                               | Xét nghiệm tế bào nước tiểu (bằng máy tự động)                                                                                          |
| 11.                               | Đếm số lượng tiểu cầu bằng máy đếm tự động theo nguyên lý trở kháng và laser; quan sát độ tập trung tiểu cầu trên tiêu bản máu ngoại vi |
| 12.                               | Tìm hồng cầu có chấm ưa bazơ                                                                                                            |
| 13.                               | Tìm mảnh vỡ hồng cầu                                                                                                                    |
| 14.                               | Xét nghiệm hồng cầu lưới (bằng máy đếm tự động)                                                                                         |
| 15.                               | Xét nghiệm hồng cầu lưới (Bằng kỹ thuật nhuộm xanh sáng Cresyl)                                                                         |
| 16.                               | Tìm tế bào Hargrave                                                                                                                     |
| 17.                               | Xử lý bệnh phẩm sinh thiết và chẩn đoán mô học                                                                                          |
| 18.                               | Chụp ảnh trên kính hiển vi kỹ thuật số và ghi đĩa                                                                                       |
| 19.                               | Chụp ảnh trên kính hiển vi kỹ thuật số                                                                                                  |
| <b>Chương II. Đông cầm máu</b>    |                                                                                                                                         |
| 20.                               | Thời gian máu chảy (phương pháp Ivy)                                                                                                    |
| 21.                               | Nghiệm pháp dây thắt (phương pháp tăng áp)                                                                                              |
| 22.                               | Phát hiện kháng đông đường ngoại sinh                                                                                                   |

|                                                           |                                                                                                                            |
|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 23.                                                       | Định lượng Fibrinogen (phương pháp gián tiếp) bằng máy bán tự động/tự động                                                 |
| 24.                                                       | Định lượng yếu tố XII (phương pháp 1 thì)                                                                                  |
| 25.                                                       | Nghiệm pháp sinh Thromboplastin (TGT:Thromboplastin Generation Test)                                                       |
| 26.                                                       | Định lượng ức chế yếu tố IX                                                                                                |
| 27.                                                       | Định lượng hoạt tính Plasminogen                                                                                           |
| 28.                                                       | Đo độ quán ánh máu/huyết tương                                                                                             |
| 29.                                                       | Phát hiện kháng đông đường chung                                                                                           |
| 30.                                                       | Xét nghiệm phát hiện giảm tiểu cầu do Heparin (Heparin induced Thrombocytopenia)                                           |
| 31.                                                       | Định lượng kháng nguyên chất ức chế hoạt hóa Plasminogen 1 (PAI-1 antigen: Plasminogen activated inhibitor type 1 antigen) |
| <b>Chương III. Miễn dịch- Di truyền- Sinh học phân tử</b> |                                                                                                                            |
| 32.                                                       | Định lượng kháng thể kháng nDNA (anti-nDNA) bằng kỹ thuật miễn dịch gắn men (ELISA)                                        |
| 33.                                                       | Định lượng kháng thể kháng dsDNA (anti-dsDNA) bằng kỹ thuật miễn dịch gắn men (ELISA)                                      |
| 34.                                                       | Định tính kháng thể kháng dsDNA (bằng kỹ thuật ngưng kết latex)                                                            |
| 35.                                                       | Định tính kháng thể kháng nhân bằng kỹ thuật miễn dịch gắn men (ELISA)                                                     |
| 36.                                                       | Định lượng anti – $\beta 2$ glycoprotein bằng kỹ thuật miễn dịch gắn men (ELISA)                                           |
| 37.                                                       | Đếm tế bào gốc tạo máu CD34 <sup>+</sup> bằng máy phân tích tế bào dòng chảy (Flow Cytometry)                              |
| 38.                                                       | Độ chéo trong ghép bằng máy phân tích tế bào dòng chảy (Flow Cytometry)                                                    |
| 39.                                                       | Đếm tế bào lympho T-CD3, T-CD4, T-CD8 bằng kỹ thuật phân tích tế bào dòng chảy                                             |
| 40.                                                       | Xét nghiệm CD55/59 bạch cầu                                                                                                |
| 41.                                                       | Điện di huyết sắc tố trên máy điện di mao quản                                                                             |
| 42.                                                       | Sức bền hồng cầu                                                                                                           |
| 43.                                                       | Tiền miễn cảm bằng kỹ thuật miễn dịch gắn men (ELISA)                                                                      |
| 44.                                                       | Xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH                                                                                          |
| 45.                                                       | Nhuộm băng G nhiễm sắc thể                                                                                                 |
| 46.                                                       | Công thức nhiễm sắc thể tuỷ                                                                                                |
| 47.                                                       | Công thức nhiễm sắc thể máu ngoại vi                                                                                       |
| 48.                                                       | Cấy hỗn hợp tế bào lympho                                                                                                  |
| 49.                                                       | Phát hiện người mang gen Hemophilia (bằng kỹ thuật PCR-PFLP)                                                               |
| 50.                                                       | Xét nghiệm FISH xác định nhiễm sắc thể X,Y                                                                                 |
| 51.                                                       | Xét nghiệm FISH xác định nhiễm sắc thể Ph1 (BCR/ABL)                                                                       |
| 52.                                                       | Xét nghiệm FISH chẩn đoán chuyển đoạn NST 4;11                                                                             |
| 53.                                                       | Xét nghiệm FISH chẩn đoán chuyển đoạn NST 1;19                                                                             |
| 54.                                                       | Xét nghiệm FISH chẩn đoán chuyển đoạn NST 8;21                                                                             |



|                              |                                                                                                     |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 55.                          | Xét nghiệm FISH chẩn đoán chuyển đoạn NST 15;17                                                     |
| 56.                          | Tách chiết DNA từ máu ngoại vi/máu cuống rốn                                                        |
| 57.                          | Tách chiết RNA từ máu ngoại vi/tủy xương                                                            |
| 58.                          | PCR chẩn đoán bệnh anpha thalassemia (05 đột biến)                                                  |
| 59.                          | Kỹ thuật Nested RT-PCR phát hiện gen lai BCR/ABL                                                    |
| 60.                          | Định lượng gen bệnh máu ác tính bằng kỹ thuật Real - Time PCR                                       |
| 61.                          | Xét nghiệm phát hiện sự tồn tại của gen bệnh bằng kỹ thuật RT-PCR                                   |
| 62.                          | Phát hiện gene JAK2 V617F bằng kỹ thuật AS- PCR                                                     |
| 63.                          | Xét nghiệm phát hiện đột biến gene bằng kỹ thuật Multiplex PCR ( phát hiện cùng lúc nhiều đột biến) |
| 64.                          | Định lượng virus Cytomegalo (CMV) bằng kỹ thuật Real Time PCR                                       |
| 65.                          | Phát hiện đảo đoạn intron 22 của gen yếu tố VIII bệnh Hemophilia bằng kỹ thuật longrange PCR.       |
| <b>Chương IV. Truyền máu</b> |                                                                                                     |
| 66.                          | Xét nghiệm hòa hợp miễn dịch phát máu ở 22°C (kỹ thuật ống nghiệm)                                  |
| 67.                          | Nghiệm pháp coombs trực tiếp (phương pháp ống nghiệm)                                               |
| 68.                          | Nghiệm pháp coombs gián tiếp (phương pháp ống nghiệm)                                               |
| 69.                          | Định nhóm máu hệ Rh D (yếu) (kỹ thuật ống nghiệm)                                                   |
| 70.                          | Xác định kháng nguyên C của hệ Rh (kỹ thuật ống nghiệm)                                             |
| 71.                          | Xác định kháng nguyên c của hệ Rh (kỹ thuật ống nghiệm)                                             |
| 72.                          | Xác định kháng nguyên E của hệ Rh (kỹ thuật ống nghiệm)                                             |
| 73.                          | Xác định kháng nguyên e của hệ Rh (kỹ thuật ống nghiệm)                                             |
| 74.                          | Xác định kháng nguyên K của hệ KELL (kỹ thuật ống nghiệm)                                           |
| 75.                          | Xác định kháng nguyên k của hệ KELL (kỹ thuật ống nghiệm)                                           |
| 76.                          | Xác định kháng nguyên Jka của hệ kidd (kỹ thuật ống nghiệm)                                         |
| 77.                          | Xác định kháng nguyên Jkb của hệ kidd (kỹ thuật ống nghiệm)                                         |
| 78.                          | Xác định kháng nguyên S của hệ MNS (kỹ thuật ống nghiệm)                                            |
| 79.                          | Xác định kháng nguyên P1 của hệ P1PK (kỹ thuật ống nghiệm)                                          |
| 80.                          | Xác định kháng nguyên Lea của hệ MNS (kỹ thuật ống nghiệm)                                          |
| 81.                          | Xác định kháng nguyên Leb của hệ MNS (kỹ thuật ống nghiệm)                                          |
| 82.                          | Xác định kháng nguyên Kpa của hệ KELL (kỹ thuật ống nghiệm)                                         |
| 83.                          | Xác định kháng nguyên Kpb của hệ KELL (kỹ thuật ống nghiệm)                                         |
| 84.                          | Xác định kháng nguyên M của hệ MNS (kỹ thuật ống nghiệm)                                            |
| 85.                          | Xác định kháng nguyên N của hệ MNS (kỹ thuật ống nghiệm)                                            |
| 86.                          | Xác định kháng nguyên Fya của hệ DUFFY (kỹ thuật ống nghiệm)                                        |
| 87.                          | Xác định kháng nguyên Fyb của hệ DUFFY (kỹ thuật ống nghiệm)                                        |
| 88.                          | Xác định kháng nguyên s của hệ MNS (kỹ thuật ống nghiệm)                                            |
| 89.                          | Xác định kháng nguyên Lua của hệ Lutheran (kỹ thuật ống nghiệm)                                     |
| 90.                          | Xác định kháng nguyên Lub của hệ Lutheran (kỹ thuật ống nghiệm)                                     |
| 91.                          | Xác định kháng nguyên C của hệ Rh (phương pháp gelcard)                                             |
| 92.                          | Xác định kháng nguyên c của hệ Rh (phương pháp gelcard)                                             |

|                                       |                                                                                   |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| 93.                                   | Xác định kháng nguyên E của hệ Rh (phương pháp gelcard)                           |
| 94.                                   | Xác định kháng nguyên e của hệ Rh (phương pháp gelcard)                           |
| 95.                                   | Xác định kháng nguyên K của hệ KELL (phương pháp gelcard)                         |
| 96.                                   | Xác định kháng nguyên k của hệ KELL (phương pháp gelcard)                         |
| 97.                                   | Xác định kháng nguyên Kp <sup>a</sup> của hệ KELL (phương pháp gelcard)           |
| 98.                                   | Xác định kháng nguyên Kp <sup>b</sup> của hệ KELL (phương pháp gelcard)           |
| 99.                                   | Xác định kháng nguyên Fy <sup>a</sup> của hệ DUFFY (phương pháp gelcard)          |
| 100.                                  | Xác định kháng nguyên Fy <sup>b</sup> của hệ DUFFY (phương pháp gelcard)          |
| 101.                                  | Xác định kháng nguyên Jk <sup>a</sup> của hệ kidd (phương pháp gelcard)           |
| 102.                                  | Xác định kháng nguyên Jk <sup>b</sup> của hệ kidd (phương pháp gelcard)           |
| 103.                                  | Xác định kháng nguyên Le <sup>a</sup> của hệ LEWIS (phương pháp gelcard)          |
| 104.                                  | Xác định kháng nguyên Le <sup>b</sup> của hệ LEWIS (phương pháp gelcard)          |
| 105.                                  | Xác định kháng nguyên s của hệ MNS (phương pháp gelcard)                          |
| 106.                                  | Xác định kháng nguyên S của hệ MNS (phương pháp gelcard)                          |
| 107.                                  | Xác định kháng nguyên M của hệ MNS (phương pháp gelcard)                          |
| 108.                                  | Xác định kháng nguyên N của hệ MNS (phương pháp gelcard)                          |
| 109.                                  | Xác định kháng nguyên Lu <sup>a</sup> của hệ Lutheran (phương pháp gelcard)       |
| 110.                                  | Xác định kháng nguyên Lu <sup>b</sup> của hệ Lutheran (phương pháp gelcard)       |
| 111.                                  | Xác định kháng nguyên P1 của hệ P1PK (phương pháp gelcard)                        |
| 112.                                  | Xác định kháng nguyên D từng phần (D <sup>VI</sup> ) (phương pháp gelcard)        |
| 113.                                  | Sàng lọc kháng thể bất thường (kỹ thuật ống nghiệm)                               |
| 114.                                  | Sàng lọc kháng thể bất thường (phương pháp gelcard)                               |
| 115.                                  | Định danh kháng thể bất thường (kỹ thuật ống nghiệm)                              |
| 116.                                  | Định danh kháng thể bất thường (phương pháp gelcard)                              |
| 117.                                  | Gan tế bào máu từ máu ngoại vi (Dành cho người hiến máu thành phần)               |
| <b>Chương V. Công nghệ Tế bào gốc</b> |                                                                                   |
| 118.                                  | Tuyển chọn người cho và huy động tế bào gốc                                       |
| 119.                                  | Thu nhận máu dây rốn                                                              |
| 120.                                  | Thu nhận tế bào gốc từ máu ngoại vi sau huy động                                  |
| 121.                                  | Thu nhận tế bào lympho từ người hiến                                              |
| 122.                                  | Thu nhận tế bào gốc từ tủy xương                                                  |
| 123.                                  | Phân lập tế bào gốc bằng túi lấy máu                                              |
| 124.                                  | Phân lập tế bào gốc từ máu dây rốn bằng phương pháp ly tâm có sử dụng HES         |
| 125.                                  | Phân lập tế bào gốc bằng ống ly tâm 50ml, không sử dụng hóa chất                  |
| 126.                                  | Cô đặc và tinh sạch tế bào gốc bằng ống Res-Q60                                   |
| 127.                                  | Phân lập tế bào gốc bằng phương pháp ly tâm phân lớp theo tỷ trọng sử dụng FICOLL |
| 128.                                  | Phân lập tế bào gốc bằng hệ thống tự động SEPAX                                   |
| 129.                                  | Phân lập tế bào gốc máu dây rốn bằng hệ thống tự động AXP                         |
| 130.                                  | Phân lập tế bào gốc từ dịch hút tủy xương bằng máy COMTEC                         |

|                                      |                                                                   |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 131.                                 | Phân lập tế bào gốc từ dịch hút tủy xương bằng máy HARVEST-TERUMO |
| 132.                                 | Bảo quản đông lạnh tế bào gốc tạo máu bằng bình nitơ lỏng         |
| 133.                                 | Rã đông khối tế bào gốc đông lạnh                                 |
| 134.                                 | Đánh giá tỷ lệ sống của tế bào bằng kỹ thuật nhuộm xanh Tryban    |
| 135.                                 | Nuôi cấy cụm tế bào gốc tạo máu                                   |
| 136.                                 | Vận chuyển tế bào gốc sau bảo quản                                |
| 137.                                 | Định nhóm HLA độ phân giải cao bằng kỹ thuật SSO – Luminex        |
| <b>Chương VI. Huyết học lâm sàng</b> |                                                                   |
| 138.                                 | Trao đổi huyết tương                                              |
| 139.                                 | Gạn bạch cầu điều trị                                             |
| 140.                                 | Gạn tiểu cầu điều trị                                             |
| 141.                                 | Truyền hóa chất đường tĩnh mạch                                   |
| 142.                                 | Truyền máu tại giường                                             |
| 143.                                 | Rút máu                                                           |
| 144.                                 | Chọc tủy sống lấy dịch não tủy làm xét nghiệm                     |
| 145.                                 | Chọc tủy sống tiêm hóa chất nội tủy                               |
| 146.                                 | Ghép tế bào gốc tạo máu tự thân                                   |
| 147.                                 | Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loại                                 |

(Tổng số 147 quy trình kỹ thuật)

**KT. BỘ TRƯỞNG  
THỨ TRƯỞNG**

**Đã ký**

**Nguyễn Thị Xuyên**

# CHƯƠNG I. HUYẾT HỌC TẾ BÀO (Cell-Hematology)

## NHUỘM HÓA HỌC TẾ BÀO (CYTOCHEMICAL STAIN)

### I. NGUYÊN LÝ

Hóa học tế bào là phương pháp khảo sát một số thành phần có chứa trong bào tương của tế bào, dưới kính hiển vi quang học sau khi làm hiện màu bằng các thuốc nhuộm hoặc các cơ chất thích hợp.

#### 1. Nguyên tắc chung

**Tất cả các phương pháp nhuộm hóa học tế bào đều bao gồm ba giai đoạn:**

- *Cố định*: Ngoài mục đích cố định tế bào trên tiêu bản, đối với mỗi phương pháp nhuộm phải lựa chọn hóa chất cố định hợp lý để bảo tồn tối đa thành phần cần khảo sát: ví dụ các không bào mỡ trong nhuộm Soudan Black, men peroxidase trong nhuộm Peroxydase,...

- *Nhuộm*: Dùng các thuốc nhuộm (Soudan Black) hay các cơ chất (benzidin,  $\infty$  naphtol acetat,...) để trực tiếp hoặc gián tiếp làm hiện màu các thành phần cần khảo sát.

- *Tạo nền*: Dùng một thuốc nhuộm làm hiện màu hình thái tế bào (nhân và bào tương) trên tiêu bản. Màu nền phải có độ tương phản cần thiết để giúp quan sát thuận lợi các hạt dương tính trong mỗi *phương pháp nhuộm*.

#### 2. Đảm bảo tiêu bản khô, sạch ở mỗi bước kỹ thuật

Phải loại bỏ hết chất cố định hay chất nhuộm và để khô tiêu bản trước khi chuyển sang bước tiếp theo.

### II. CHỈ ĐỊNH

- Hỗ trợ phương pháp hình thái học để xác định dòng, mức độ biệt hoá tế bào trong phân loại lơ xê mi cấp, hội chứng rối loạn sinh tủy và các bất thường khác.

- Trong một số trường hợp đặc biệt, hoá học tế bào giúp xác định một quần thể tế bào có phải blast hay không: ví dụ các microblast dòng hạt trên tiêu bản Giemsa giống như lympho rối loạn hình thái.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Cử nhân kỹ thuật, kỹ thuật viên Huyết học – Truyền máu thuộc nhóm kỹ thuật chuyên sâu thực hiện quy trình này.

## **2. Phương tiện – Hóa chất**

Hiện nay, hầu hết các Labo Huyết học – Tế bào đều sử dụng các phương pháp nhuộm hóa học tế bào bằng cách cố định tiêu bản bằng hơi formol 40% và dung dịch cồn formol 10%.

Mặc dù có thể sử dụng hóa chất của các hãng khác nhau, nhưng để đạt được hiệu quả tốt thì việc chuẩn bị các phương tiện để tiến hành kỹ thuật cũng có điểm chung như:

### **2.1. Dụng cụ**

- Bể nhuộm thủy tinh dung tích 100ml: 2 chiếc;
- Bàn sấy, quạt sấy tiêu bản: 1 chiếc;
- Bain - marie (bình cách thủy) có điều chỉnh nhiệt độ;
- Pipette Pasteur:  $\geq 4$  cái/1 tiêu bản;
- Pipette man loại 100 - 1000 $\mu$ l: 1- 2 cái, kèm đầu côn;
- Gạc thấm: 2 cái/ 1 tiêu bản;
- Lam kính làm tiêu bản theo nhu cầu;
- Giá cài tiêu bản: sử dụng theo số xét nghiệm;
- Kính hiển vi + dầu soi.

### **2.2. Hóa chất**

- Cồn formol 10%: 100ml cho một đợt dùng;
- Cơ chất cho phản ứng: Soudan black, periodic acid shiff, benzidin, Naphthol acetat...;
- Các hóa chất đệm phản ứng: Tris, TBS, PO<sub>4</sub>-3,...;
- Các hóa chất nhuộm nền như: Hematoxylin, Giemsa, Nuclear Fastred...

## **3. Bệnh phẩm**

- Sử dụng tiêu bản tủy xương hoặc tiêu bản máu ngoại vi (theo chỉ định);
- Tiêu bản được sấy khô và ghi các ký hiệu của kỹ thuật cần làm.

## **4. Phiếu xét nghiệm**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Trước khi tiến hành cần làm các thao tác sau:

- Kiểm tra thông tin tiêu bản (tên, tuổi người bệnh);
- Ghi ký hiệu trên tiêu bản (ví dụ: PAS, Peroxydase, Soudan Black ...);
- Làm khô tiêu bản;

- Tiến hành từng bước kỹ thuật:
- + Cố định tiêu bản (máu, tủy) trong cồn formol 10% hoặc hơi formol 40%: 10 phút.
- + Rửa dưới dòng nước chảy mạnh (đối với cố định bằng cồn formol 10%), rửa nhẹ nhàng (đối với cố định bằng hơi formol 40%) rồi sấy khô tiêu bản: thường khoảng 5 – 10 phút.
- + Nhuộm với cơ chất tùy từng loại xét nghiệm. Tùy theo mỗi loại xét nghiệm và cơ chất mà để thời gian phù hợp, tạo điều kiện cho phản ứng hiệu quả.
- + Rửa dưới dòng nước chảy mạnh để loại bỏ hóa chất còn lại sau phản ứng và các tạp bẩn trên tiêu bản → sấy khô tiêu bản.
- + Nhuộm nền: Tùy theo mỗi loại xét nghiệm mà có hóa chất và thời gian nhuộm khác nhau để có chất lượng tốt.
- + Rửa dưới dòng nước chảy mạnh → sấy khô và làm đẹp, hoàn thiện tiêu bản.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Đánh giá mức độ dương tính**

- Độ 0: Không có hạt bắt màu hóa học tế bào là (-).
- Độ 1: Các hạt bắt màu chiếm khoảng  $\leq 1/3$  bào tương tế bào là (+).
- Độ 2: Các hạt bắt màu chiếm khoảng  $>1/3$  đến  $< 3/4$  bào tương tế bào là (++) .
- Độ 3: Các hạt bắt màu chiếm hết bào tương tế bào là (+++).
- Độ 4: Các hạt bắt màu chiếm hết bào tương và đè lên cả nhân tế bào là (++++).

### **2. Tính điểm (score)**

Đánh giá mức độ dương tính hóa học tế bào của 100 tế bào cần nghiên cứu. Giả sử tỷ lệ phần trăm tế bào ở các độ 0, 1, 2, 3, 4 tương ứng với a, b, c, d, e thì công thức tính điểm như sau:

$$\text{Score} = (a \times 0) + (b \times 1) + (c \times 2) + (d \times 3) + (e \times 4)$$

## **VII. THEO DÕI**

Ở mỗi phương pháp nhuộm đều đòi hỏi nồng độ hóa chất và thời gian phản ứng khác nhau. Vì vậy, người tiến hành kỹ thuật phải theo dõi được thời gian phản ứng của mỗi xét nghiệm để chọn thời gian tối ưu cho phản ứng. Việc đó góp phần quan trọng đến việc có tạo ra sản phẩm chất lượng cao hay không.

## **VIII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Nhuộm hóa học tế bào đòi hỏi chặt chẽ về nồng độ hóa chất, thời gian phản ứng và điều kiện phản ứng. Nếu xảy ra sự cố thì xử trí bằng cách thực hiện quy chuẩn về các điều kiện cho mỗi loại xét nghiệm.

## **TÌM ẤU TRÙNG GIUN CHỈ (Phương pháp thủ công)**

### **(Filariasis's larva Test by manual method)**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

- Ấu trùng giun chỉ được truyền từ người này sang người khác qua muỗi đốt và phát triển thành giun chỉ trưởng thành trong hệ bạch huyết, cản trở tuần hoàn bạch huyết, gây phù chân voi.

- Giun chỉ đẻ ra ấu trùng, ấu trùng chui qua ống bạch huyết vào máu.

- Ấu trùng lưu hành trong máu, thường xuất hiện ở máu ngoại vi vào ban đêm (từ 20h đến 4h).

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

- Những người cần chỉ định làm xét nghiệm bao gồm: có biểu hiện lâm sàng nghi ngờ nhiễm giun chỉ; những người đã và đang sinh sống ở vùng có giun chỉ lưu hành.

- Lấy máu ngoại vi vào ban đêm; tốt nhất lấy máu vào khoảng thời gian từ 20h đến 2h sáng.

- Có thể lấy máu tìm ấu trùng vào ban ngày khi dùng thuốc kích thích Diethylcarbazine (D.E.C).

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên lấy máu mao mạch trực tiếp cho người bệnh tại phòng xét nghiệm, bệnh phòng hay tại địa phương.

##### **2. Phương tiện - Hóa chất**

###### **2.1. Dụng cụ**

- Phiếu xét nghiệm;
- Lam kính khô, sạch;
- Giá nhuộm, giá cài tiêu bản;
- Kim chích máu vô khuẩn;
- Bông thấm nước vô khuẩn;
- Khay men (nếu cần);
- Ống đong;
- Pipette nhỏ giọt;



- Đũa thủy tinh;
- Đồng hồ;
- Kính hiển vi.

## **2.2. Hóa chất**

- Cồn sát trùng 70°;
- Giemsa mẹ;
- Dung dịch Formalin 2%;
- Nước cất hoặc dung dịch đệm.

## **3. Người bệnh**

- Về mùa lạnh, người bệnh nên nhúng tay vào nước ấm khoảng 5 phút trước khi lấy máu.

- Tốt nhất nên lấy máu vào ban đêm (từ 20h - 2h sáng).

- Nếu lấy máu vào ban ngày: cho người bệnh uống Diethylcarbazine (D.E.C) với liều 2mg/1kg cân nặng (khoảng 0.1g cho 1 người), sau 15- 30 phút lấy máu làm xét nghiệm. Với cách này, mật độ ấu trùng được phát hiện bằng khoảng 20 - 40% so với kỹ thuật lấy máu xét nghiệm ban đêm. Phương pháp này cũng cần cẩn thận khi áp dụng ở những vùng có giun chỉ B.malayi, vì có thể xảy ra phản ứng sốt.

## **4. Hồ sơ bệnh án**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy máu làm xét nghiệm**

- Đánh mã số của người bệnh lên tiêu bản.

- Sát khuẩn đầu ngón tay đeo nhẫn bằng cồn 70°, để khô.

- Dùng kim chích vô khuẩn đâm nhanh vào vị trí sát khuẩn với độ sâu vừa phải.

- Lấy 3 giọt máu cách đều trên lam kính, mỗi giọt khoảng 20mm<sup>3</sup>. Khối lượng máu lấy làm xét nghiệm là 60mm<sup>3</sup>.

- Dùng đũa thủy tinh đánh tròn các giọt máu sao cho mỗi giọt máu có đường kính 1.5cm, để khô tự nhiên. Tiêu bản nên để khô 24 giờ thì nhuộm, nhưng cũng không nên để lâu quá.

### **2. Nhuộm tiêu bản**

- Pha dung dịch Giemsa với dung dịch đệm hoặc nước cất trung tính (pH = 7), nồng độ 1–5%.

- Phủ kín tiêu bản bằng dung dịch Giemsa trên, nhuộm từ 30– 60 phút tùy theo nồng độ của dung dịch Giemsa. Trung bình mỗi tiêu bản cần khoảng 2ml dung dịch nhuộm.

- Tráng nhẹ nhàng bằng nước thường cho trôi hết Giemsa.

- hong khô tự nhiên tiêu bản trên giá.

- Tiêu bản sau khi nhuộm đạt yêu cầu khi soi trên kính hiển vi: ấu trùng bắt màu tím trên nền màu hồng nhạt; Các hạt nhiễm sắc và hạch nhân bắt màu rõ.

### 3. Soi, phát hiện ấu trùng

- Soi phát hiện ấu trùng giun chỉ bằng vật kính x 10.

- Soi định loại bằng vật kính x 40.

- Soi toàn bộ diện tích 3 giọt máu, soi theo hình chữ chi.

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Đếm số lượng ấu trùng có trên 3 giọt máu, sơ bộ đánh giá mật độ ấu trùng có trên 60mm<sup>3</sup> máu.

### *Đặc điểm nhận dạng ấu trùng giun chỉ:*

| Đặc điểm                           | W. bancrofti            | B. malayi                                                         |
|------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Thời gian xuất hiện ở máu ngoại vi | Từ 20h đến 4h sáng.     | Từ 20h đến 6h sáng.                                               |
| Kích thước                         | 200 µm                  | 220 µm                                                            |
| Hình thể                           | Đều, mềm mại, xoắn ít.  | Có thể không đều, xoắn nhiều.                                     |
| Màng áo                            | Dài hơn thân một ít.    | Dài hơn thân nhiều.                                               |
| Đầu                                | Có một gai.             | Có 2 gai.                                                         |
| Hạt nhiễm sắc                      | Ít và rõ, tròn.         | Nhiều và không rõ, sát nhau.                                      |
| Hạt nhiễm sắc cuối đuôi            | Không đi đến cuối đuôi. | Đi đến cuối đuôi, có một hạt tách riêng ra, đi đến tận cùng đuôi. |

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Lượng máu lấy không đủ.

- Lấy máu vào thời gian giun chỉ không xuất hiện ở máu ngoại vi, hoặc lấy máu quá sớm hay quá muộn sau khi uống D.E.C

**TÌM KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT**  
**(Phương pháp thủ công)**  
**(Malaria parasite Test by manual method)**

**I. ĐẠI CƯƠNG**

- Ký sinh trùng sốt rét (KSTSR) kí sinh ở người, vật chủ trung gian truyền bệnh là muỗi Anopheles.
- KSTSR xuất hiện nhiều nhất ở máu ngoại vi, khi người bệnh bắt đầu lên cơn sốt hay trong khi đang sốt.
- Máu được lấy để tìm KSTSR từ tĩnh mạch, chống đông bằng EDTA hoặc lấy trực tiếp từ mao mạch (bằng cách chích đầu ngón tay, dải tai hay gót chân).
- Ký sinh trùng sốt rét được tìm thấy bằng cách soi giọt máu dày hoặc giọt máu đàn trên kính hiển vi. Giọt máu được nhuộm bằng Giemsa loãng.
- Mật độ KSTSR được tính trên mật độ bạch cầu hoặc được tính bằng thang điểm (+) trên giọt đặc.
- Phân loại KSTSR theo tiêu chuẩn quy định.

**II. CHỈ ĐỊNH**

- Người bệnh có biểu hiện lâm sàng nghi ngờ nhiễm KSTSR;
- Người bệnh đã và đang sinh sống ở vùng có sốt rét lưu hành;
- Người bệnh mới từ vùng sốt rét trở về.

**III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

**IV. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

- Điều dưỡng lấy máu tĩnh mạch.
- Kỹ thuật viên lấy máu mao mạch trực tiếp tại phòng xét nghiệm hay tại địa phương, kết hợp làm kỹ thuật.

**2. Phương tiện - Hóa chất**

**2.1. Dụng cụ**

- Phiếu xét nghiệm;
- Lam kính khô, sạch;
- Lam kéo có cạnh nhẵn;
- Kim chích máu vô khuẩn;

- Bông thấm nước vô khuẩn;
- Băng dính cầm máu;
- Khay men;
- Ống đong các loại: 10ml, 20ml...;
- Pipette nhỏ giọt;
- Đũa thủy tinh;
- Giá nhuộm, giá cài tiêu bản;
- Đồng hồ;
- Máy sấy tiêu bản;
- Dầu soi kính;
- Kính hiển vi;
- Bút viết;
- Bút chì kính mềm;
- Găng tay, khẩu trang, trang phục bảo hộ lao động.

## **2.2. Hóa chất**

- Cồn sát trùng 70°;
- Cồn tuyệt đối 96°;
- Thuốc nhuộm Giemsa mẹ;
- Nước cất hoặc dung dịch đậm;
- Các dung dịch điều chỉnh pH:  $\text{NaHPO}_4$  2%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2%.

### **● Cách pha dung dịch đậm:**

- $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 0.7g;
- $\text{NaHPO}_4$ : 1.0g.

Lượng muối trên mỗi loại hòa tan trong 150ml nước cất, dùng đũa thủy tinh khuấy đều cho tan hết. Trộn 2 loại dung dịch trên, tiếp tục cho vừa đủ 1000ml. Khuấy đều, kiểm tra, điều chỉnh pH 7.2.

### **● Cách pha dung dịch Giemsa nhuộm:**

- Giemsa mẹ: 0.3 - 0.4ml.
- Dung dịch đậm hoặc nước cất: 9.7ml.

Trộn đều Giemsa mẹ và nước cất ta được dung dịch Giemsa 3 – 4%.

Thời gian nhuộm: 30 – 45 phút.

\* Nhuộm nhanh: Pha dung dịch Giemsa 10% (1ml Giemsa mẹ + 9ml dung dịch đậm). Thời gian nhuộm: 15 – 20 phút.

### 3. Người bệnh

Nên làm xét nghiệm cho người bệnh trước hoặc trong khi lên cơn sốt, lúc này khả năng tìm thấy KSTSR ở máu ngoại vi cao hơn.

### 4. Hồ sơ bệnh án

Giấy chỉ định xét nghiệm (biểu mẫu số....) ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: Họ tên, năm sinh, địa chỉ khoa/phòng, số giường, nơi cư trú, chẩn đoán, chỉ định xét nghiệm; Ghi rõ ngày, tháng, năm chỉ định, chữ ký bác sĩ ra y lệnh.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Trường hợp máu được lấy từ tĩnh mạch: Khi tiếp nhận ống máu từ y tá bệnh phòng, tiến hành làm tiêu bản từ ống máu được chống đông bằng EDTA, mà không qua lấy máu mao mạch trực tiếp từ người bệnh được trình bày ở phần tiếp sau đây:

- Lấy máu làm tiêu bản trực tiếp (lấy máu mao mạch)
- + Sát khuẩn ngón tay chích máu bằng cồn 70°, chờ khô.
- + Dùng kim vô khuẩn chích vào vị trí sát khuẩn, sâu khoảng 1mm.
- + Lau bỏ giọt máu đầu bằng bông khô, sạch.
- + Vuốt nhẹ nhàng ngón tay vừa chích từ trên xuống dưới.
- + Dùng lam kính sạch áp nhẹ vào giọt máu thứ 2, giọt máu cách đầu lam 2cm.
- + Giọt máu thứ 3 cũng lấy bằng cách áp lam tương tự như giọt máu thứ 2, cách giọt máu thứ 2 khoảng 1.5cm.
- + Dùng lam kính sạch khác đặt vào trung tâm giọt máu thứ 2 đánh theo hình xoắn ốc từ trong ra ngoài từ 5– 6 vòng để được giọt máu đặc có đường kính 0.9 - 1.0cm.
- + Tiếp theo, lấy lam kính kéo đặt lên phía trước giọt máu còn lại tạo thành góc 30° - 45°, lùi lam kéo về phía sau một chút để giọt máu được lan đều trên cạnh của lam kéo; đẩy từ từ lam kéo về phía trước, ta được giọt đàn.
- + Sát khuẩn tay cho người bệnh.
- + Để lam khô tự nhiên.
- + Đánh dấu tiêu bản bằng tên, mã số...theo quy định, tránh sai sót, nhầm lẫn.
- + Cố định giọt đàn bằng cồn tuyệt đối: nghiêng tiêu bản khoảng 30°, dùng pipette nhỏ giọt lấy cồn phủ lên giọt đàn, cài lên giá, để khô.

+ Giọt đặc thì không cố định. Nhưng đối với những trường hợp giọt đặc quá dày hay bắn mốc thì phải dung giải bằng cách nhỏ nước cất hay Giemsa 1% trong 1- 2 phút, đổ nước, cắm lên giá, hong khô.

*\* Tiến hành nhuộm:*

- Xếp tiêu bản lên giá nhuộm, nhỏ dung dịch Giemsa phủ kín lên lam (Nồng độ Giemsa và thời gian nhuộm theo quy định).
- Rửa tiêu bản bằng nước sạch. Lưu ý đổ nước nhẹ nhàng vào góc lam để nước sạch dần thay thế Giemsa, tránh rửa mạnh làm trôi bệnh phẩm.
- hong lam khô tự nhiên.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

**\* Đọc kết quả:** Tìm KSTSR dưới KHV độ phóng đại 10 x 40 (để kiểm tra tiêu bản), sau đó đọc dưới độ phóng đại 10 x 100 tìm KSTSR theo chiều ngang tiêu bản, tuần tự tránh bỏ sót, hoặc theo chiều dọc, tránh trùng lên nhau. Đánh giá như sau:

- Soi 100 vi trường, thấy 1 KSTSR: (+);
- Soi 100 vi trường, thấy 10 KSTSR: (++);
- Soi 1 vi trường, thấy 1 KSTSR: (+++);
- Soi 1 vi trường, thấy 10 KSTSR: (++++).

**\* Xác định loại KSTSR** dựa trên hình thái và tiêu chuẩn chẩn đoán theo quy định.

## **VII. THEO DÕI**

- Theo dõi chặt chẽ người bệnh đi từ vùng có sốt rét lưu hành ra;
- Theo dõi những người bệnh nghi ngờ bị sốt rét, nên lấy máu tìm KSTSR trước hoặc trong khi người bệnh có cơn sốt;
- Cần theo dõi việc tái phát cho người có tiền sử sốt rét.

## **VIII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Chích đầu ngón tay không bỏ giọt máu đầu;
- Quá trình chích máu nặn bóp nhiều;
- Nhầm bệnh phẩm của người này sang người khác;
- Quá trình cố định, nhuộm không tốt gây bong tróc, trôi mất bệnh phẩm;
- Chẩn đoán sai do không bám sát tiêu chuẩn chẩn đoán.

**NHUỘM HÓA MÔ MIỄN DỊCH**  
**MẢNH SINH THIẾT TỬY XƯƠNG**  
**(Immunohistochemical stain on bone marrow biopsy)**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nhuộm hóa mô miễn dịch mảnh sinh thiết tủy xương là phương pháp nhuộm sử dụng các kháng thể đã biết để xác định kháng nguyên có trong tổ chức tủy xương. Đây là kỹ thuật kết hợp phản ứng miễn dịch và hóa chất để làm hiện rõ các kháng nguyên hiện diện trong tế bào (bào tương, màng tế bào, nhân tế bào).

## **II. CHỈ ĐỊNH**

- Nghi ngờ u lympho xâm lấn tủy xương;
- Nghi ngờ K di căn tủy xương;
- Nghi ngờ tăng sinh bất thường các dòng tế bào trong tủy xương.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học – Truyền máu.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

#### **2.1. Dụng cụ**

- Kính hiển vi quang học;
- Máy cắt tiêu bản;
- Bàn sấy 37°C;
- Lam kính chuyên dụng POLYSINED SNIDE;
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 100ml: 07 chiếc;
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 200ml: 07 chiếc;
- Lò vi sóng: 01 chiếc;
- Giá cài tiêu bản vừa bể nhuộm 200ml: 01 chiếc;
- Giá gỗ cài tiêu bản: 02 chiếc;
- Pipette man 0.2 -10 µl: 01 chiếc;
- Pipette man 100µl: 01 chiếc;
- Ống nghiệm vô trùng 2ml: 10 ống (tùy số maker cần sử dụng)

- Khay Inox 30 x 50 cm: 02 chiếc;
- Gạc thấm nước: 03 chiếc;
- Bút chì: 01 chiếc;
- Lamen 22 x 24 hoặc 22 x 22.

## 2.2. Hóa chất

- Toluen 1,2,3: để sẵn trong 3 bể nhuộm 100ml;
- Cồn Etylic 80°, cồn tuyệt đối 1,2 để sẵn trong bể nhuộm 100ml;
- Dung dịch đệm TBS (pH = 7,6);
- Dung dịch đệm Citrat Buffer (pH = 7,0);
- Dung dịch Hydroclorit (oxy già) 3%;
- Dung dịch Anti Dako Diluent;
- Kháng thể 1 (Anti Human – Tùy từng Marker);
- Kháng thể 2 (Envision + HRP – REF: K5007);
- Bộ định màu DAB + Chomogen (REF: K5007);
- Dung dịch Hematoxylin 5% 100ml;
- Boom Canada: Lấy ra cốc nhỏ, để trong tủ 60°C.

## 2.3. Pha hóa chất

### 2.3.1. Dung dịch TBS (pH = 7.6)

#### \* Dung dịch Tris HCL (1)

|               |            |            |
|---------------|------------|------------|
| Tris          | 60.55 gram | 30.27 gram |
| Axit HCL      | 35 ml      | 17.5 ml    |
| Nước cất      | 1000 ml    | 500ml      |
| Tổng sản phẩm | 1035 ml    | 517.5 ml   |

#### \*Dung dịch NaCl (2)

|                       |         |         |
|-----------------------|---------|---------|
| Natriumchlorid (NaCl) | 90 gram | 45 gram |
| Nước cất              | 1000 ml | 500 ml  |
| Tổng sản phẩm         | 1000 ml | 500 ml  |

⇒ **Dung dịch TBS gồm:** 100 ml (1) + 100 ml (2) + 800ml nước cất = 1000 ml chuẩn độ để đạt pH = 7,6.

### 2.3.2. Dung dịch Citrat buffer pH = 7.0



**\*Dung dịch (A):**

|               |            |            |
|---------------|------------|------------|
| Acid acitric  | 21.01 gram | 10.51 gram |
| Nước cất      | 1000 ml    | 500ml      |
| Tổng sản phẩm | 1000 ml    | 500 ml     |

**\* Dung dịch (B), pH= 6.0**

|                            |            |            |
|----------------------------|------------|------------|
| Tri-Natriumcitrat-Dihydrat | 29.41 gram | 14.71 gram |
| Nước cất                   | 1000 ml    | 500ml      |
| Tổng sản phẩm              | 1000 ml    | 500 ml     |

⇒ **Citrat buffer** gồm: 2ml (A) + 98ml (B) + 900ml nước cất(1000ml)

2.3.3. *Dung dịch kháng thể 1*: Là sự kết hợp của Anti Diluent (100µl/1 tiêu bản) với kháng thể đã biết (Anti Human) theo tỷ lệ khuyến cáo của nhà sản xuất và tùy từng maker sử dụng.

### 3. Bệnh phẩm

Lóc nền mảnh sinh thiết tủy xương.

### 4. Phiếu xét nghiệm

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Chuẩn bị tiêu bản

- Đúc khuôn parafin mảnh sinh thiết tủy xương đã được xử lý, làm nguội và để trong tủ lạnh 2-8°C.

- Cắt tiêu bản mỏng 0,2 µm, dán trên lam kính chuyên dụng.

- Sấy khô tiêu bản trong tủ ẩm 37°C trong thời gian 12 giờ.

### 2. Tiến hành nhuộm

Thực hiện theo quy trình sau ở điều kiện tiêu bản luôn ẩm:

- Ngâm tiêu bản trong dung dịch Toluen (15 phút), cồn 80° (5 phút) và cồn tuyệt đối (10 phút).

- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút.

- Tráng tiêu bản qua dd TBS (pH = 7,6) trong vài giây → Cho vào đệm Citratebuffer (pH = 7.0) và đun trong lò vi sóng: 15 phút (ở chế độ M.Hight).

- Để nguội tự nhiên ở nhiệt độ phòng đến ≤ 40°C.

- Rửa bằng dd TBS (pH = 7,6): 3 lần (lần đầu tráng qua, lần 2 & 3 mỗi lần 5 phút).

- Ngâm trong dung dịch Oxy (Hydrogen peoxide) già 3%: 3 phút

- Tráng qua nước cất 2 lần (dùng bình bóp).
- Cho qua dung dịch TBS (pH = 7,6): 3 lần
- Cho tiêu bản ra giá và ủ kháng thể 1(100 - 200µl/lam): 30 phút.
- Rửa bằng dung dịch TBS (pH = 7,6): 3 lần, lau khô xung quanh mảnh.
- Phủ kháng thể 2 (Envision + HRP): 30 phút.
- Rửa bằng dung dịch TBS (pH = 7,6): 3 lần, lau khô xung quanh mảnh.
- Phủ dung dịch DAB (Tỷ lệ: 1ml buffer + 10 µl chromogen): 5–10 giây, kết thúc ở 5 phút.
- Rửa qua nước cất 2 bằng bình bóp rồi cài vào giá trong bể nhuộm có sẵn nước cất 2 lần.
- Nhuộm Hematoxylin: 1 phút.
- Tráng còn tuyệt đối, ngâm tiêu bản trong Toluene → gắn lamên, để khô và nhận định kết quả.

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Việc nhận định kết quả hình thái được khẳng định ở hai tiêu chí: âm tính và dương tính.

**Âm tính:** Trên kính hiển vi quan sát thấy nhân của các tế bào bắt màu xanh tím của Hematoxylin, nguyên sinh chất không có biểu hiện gì.

**Dương tính:** Nếu có sự hiện diện kháng nguyên trên tế bào, phức hợp kháng nguyên – kháng thể – DAB Chromogen sẽ cho màu vàng nâu trên nguyên sinh chất của tế bào, nhân của tế bào bắt màu xanh tím của Hematoxylin.

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Để lam khô trong quá trình nhuộm;
- Thực hiện không đầy đủ theo quy trình kỹ thuật;
- Xử lý mảnh sinh thiết không tốt;
- Thời gian nhuộm các bước không phù hợp;
- Kỹ năng của người thực hiện kỹ thuật chưa ổn định.

# **NHUỘM SỢI XƠ TRONG MÔ TỦY XƯƠNG**

## **(Phương pháp sợi Collagen Van Gieson)**

### **(Van Gieson's stain on bone marrow biopsy)**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Nhuộm sợi collagen là phương pháp kết hợp ba màu gồm: một chất nhuộm nhân Hematoxylinferic, một chất nhuộm bào tương bằng Picro Fuchsin và một màu trọng lực của collagen là Solution Van Gieson.

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp bệnh lý có tăng sinh xơ trong tủy xương ( hội chứng tăng sinh tủy...).

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

01 Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân kỹ thuật y có kiến thức chuyên khoa.

##### **2. Phương tiện - Hóa chất**

###### **2.1. Dụng cụ**

- Kính hiển vi quang học;
- Máy cắt tiêu bản;
- Bàn sấy 37°C;
- Lam kính sạch, mờ một đầu;
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 100ml: 06 chiếc;
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 200ml: 02 chiếc;
- Giá cài tiêu bản vừa bể nhuộm 200ml: 01 chiếc;
- Giá gỗ cài tiêu bản: 02 chiếc;
- Pipette Pasteur: 05 chiếc;
- Gạc thấm nước: 03 chiếc;
- Bút chì: 01 chiếc;
- Lamén 22 x 24 hoặc 22 x 22

###### **2.2. Hóa chất**

- Toluen 1,2,3: để sẵn trong 3 bể nhuộm 100ml;
- Cồn Etylic 80°, cồn tuyệt đối 1,2 để sẵn trong bể nhuộm 100ml;

- Dung dịch Hematoxylinferric;
- Dung dịch Picro Fuchsin;
- Dung dịch Solution Văn Gieson;
- Boom Canada: Để nóng chảy ở 60°C lượng vừa phải.

### **3. Bệnh phẩm**

Lóc nên mảnh sinh thiết tủy xương.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Chuẩn bị tiêu bản**

- Đúc khuôn parafin mảnh sinh thiết tủy xương đã được xử lý, làm nguội và để lạnh 2–8°C.

- Cắt tiêu bản mỏng 0,2 µm, dán trên lam kính.
- Sấy khô tiêu bản trong tủ ẩm 37°C trong thời gian 3 giờ.

### **2. Tiến hành nhuộm**

- Ngâm tiêu bản trong dung dịch Toluen (15 phút), cồn 80° (5 phút) và cồn tuyệt đối (10 phút);
- Rửa dưới dòng nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Nhuộm dung dịch Hematoxylinferric: 5–10 phút;
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Nhuộm trong dung dịch Picro Fuchsin: 3–5 phút;
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Nhuộm dung dịch Solution Van Gieson: 1– 3 phút;
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Nhúng trong cồn 95°: 10 giây;
- Loại bỏ nước bằng cồn tuyệt đối;
- Loại bỏ cồn, làm trong bằng Toluen;
- Gắn Boom Canada và sấy khô tiêu bản.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Việc nhận định kết quả được tiến hành trên kính hiển vi quang học. Các sợi Collagen có màu đỏ đậm trên nền nhân tế bào có màu xanh đen.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Tiêu bản không được đảm bảo gắn chặt trên lam, thời gian để khô chưa đạt;
- Rửa nước không kỹ sau mỗi bước nhuộm hóa chất;

- Thời gian nhuộm không đúng quy trình chuẩn, hoặc tùy kích thước của bệnh phẩm mà có thời gian nhuộm khác nhau;
- Kỹ năng chuyên môn của kỹ thuật viên chưa tốt.

**NHUỘM SỢI LIÊN VÕNG TRONG MÔ TỦY XƯƠNG**  
**(Phương pháp Gomori)**  
**(Gomori's trichrome stain on bone marrow biopsy)**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nhuộm sợi liên võng trong mô tủy xương là phương pháp nhuộm nhằm phát hiện các sợi liên võng dựa trên việc sử dụng một muối Bạc không bền vững (thường là Nitrat bạc ammoniac) và một chất khử thông dụng là fomaldehyt, chất khử sẽ khử muối bạc thành bạc (Ag) loại có màu đen lắng đọng trên các sợi liên võng.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp có tăng sinh sợi liên võng trong tủy xương.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân kỹ thuật y có kiến thức chuyên khoa.

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Dụng cụ**

- Kính hiển vi quang học;
- Máy cắt tiêu bản;
- Bàn sấy 37°C;
- Lam kính sạch, mờ một đầu;
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 100ml: 07 chiếc;
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 200ml: 02 chiếc;
- Giá cài tiêu bản vừa bể nhuộm 200ml: 01 chiếc;
- Giá gỗ cài tiêu bản: 02 chiếc;
- Pipette Pasteur 05 chiếc;
- Gạc thấm nước: 03 chiếc;
- Bút chì: 01 chiếc;
- Lamén 22 x 24 hoặc 22 x 22.

#### **2.2. Hóa chất**

- Toluén 1,2,3: để sẵn trong 3 bể nhuộm 100ml;
- Cồn Etylic 80°, cồn tuyệt đối 1,2 để sẵn trong bể nhuộm 100ml;

- Dung dịch Fomaldehyt 20%;
- Dung dịch  $\text{KMnO}_4$  0,5%;
- Nước cất hai lần;
- Dung dịch Natribisulfit  $\text{Na}_2\text{SO}_5$  2%;
- Dung dịch Sulfatdefer triamonium 2%;
- Dung dịch Nitrat bạc amoniac;
- Dung dịch Cloruađor 0,2%;
- Dung dịch metabisulfit 2%;
- Dung dịch Hyposulfit 2%;
- Boom Canada: Để nóng chảy ở  $60^\circ\text{C}$  lượng vừa phải.

### **3. Bệnh phẩm**

Lóc nền mảnh sinh thiết tủy xương.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Chuẩn bị tiêu bản**

- Đúc khuôn parafin mảnh sinh thiết tủy xương đã được xử lý, làm nguội và để lạnh  $2-8^\circ\text{C}$ .

- Cắt tiêu bản mỏng  $0,2\ \mu\text{m}$ , dán trên lam kính.
- Sấy khô tiêu bản trong tủ ẩm  $37^\circ\text{C}$  trong thời gian 3 giờ.

### **2. Tiến hành nhuộm**

- Ngâm tiêu bản trong dung dịch Toluen (15 phút), cồn  $80^\circ$  (5 phút) và Cồn tuyệt đối (10 phút);

- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Oxy hóa trong dung dịch  $\text{KMnO}_4$  0,5%: 1–2 phút;
- Rửa dưới dòng nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Biệt hóa trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_5$  2%: 3–5 phút;
- Rửa dưới dòng nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Làm nhạy bằng dung dịch Sulfatdefer triamonium 2%: 5 phút;
- Rửa dưới dòng nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Tẩm trong dung dịch Nitrat bạc amoniac: 1 phút;
- Ngâm trong nước cất: 20 phút;
- Khử trong dung dịch fomandehyt 20%: 3 phút;
- Rửa dưới dòng nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Ngâm trong dung dịch Cloruađor 0,2%: 10 phút;

- Rửa trong nước cất: 5 phút;
- Chuyển qua dung dịch metabisulfit 2%: 1 phút;
- Cố định trong Hyposulfit 2%: 1 phút;
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Loại bỏ nước bằng cồn tuyệt đối;
- Ngâm trong toluen và gắn Boom canada;
- Sấy khô tiêu bản.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Việc nhận định kết quả được tiến hành trên kính hiển vi quang học. Sợi liên võng có màu nâu đen.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Tiêu bản không được đảm bảo gắn chặt trên lam, thời gian để khô chưa đạt;
- Rửa nước không kỹ sau mỗi bước nhuộm hóa chất;
- Nước cất không chuẩn;
- Dụng cụ thủy tinh, bể nhuộm không sạch.

### **Lưu ý:**

- Chỉ dùng dụng cụ là thủy tinh và sạch;
- Tuyệt đối không dùng dụng cụ kim loại;
- Chỉ dùng hóa chất tinh khiết;
- Nơi tiến hành kỹ thuật phải hạn chế bụi làm hỏng các dung dịch.



# **XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG DỊCH NÃO TỦY**

## **(phương pháp thủ công)**

### **(Cerebrospinal fluid Test by manual method)**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Bình thường dịch não tủy trong suốt, có ít tế bào. Xét nghiệm tế bào trong dịch não tủy là xác định số lượng và thành phần tế bào có trong dịch này. Đây là xét nghiệm có ý nghĩa quan trọng trong chẩn đoán, theo dõi và điều trị bệnh.

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

- Nghi ngờ viêm màng não tủy.
- Theo dõi trong điều trị bệnh máu (u lympho, lơ xê mi cấp...).

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật y có kiến thức chuyên khoa.

##### **2. Phương tiện – Hóa chất**

###### **2.1 Dụng cụ**

- Kính hiển vi quang học;
- Máy ly tâm;
- Lam kính khô, sạch;
- Bàn sấy hoặc quạt sấy tiêu bản;
- Pipette Pasteur và quả bóp ;
- Ống nghiệm nhỏ khô sạch;
- Buồng đếm tế bào (loại buồng đếm tế bào trong dịch não tủy);
- khay inox quả đậu;
- Gạc sạch;
- Băng dính vải hoặc băng dính giấy;
- Dụng cụ lập công thức bạch cầu (bàn bấm hoặc có thể dùng viên bi, sỏi).

###### **2.2. Hóa chất**

- Cồn tuyệt đối ;
- Dung dịch Giemsa mẹ ;
- Acid axetic ;
- Nước cất ;

- Dầu soi kính hiển vi.

### **3. Bệnh phẩm**

Là mẫu bệnh phẩm dịch não tủy đựng trong ống nghiệm sạch đảm bảo các điều kiện:

- Miệng ống nghiệm được đậy nắp kín.
- Ống nghiệm có đầy đủ thông tin hành chính về tên, tuổi, giường, khoa của người bệnh phù hợp với giấy xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Trước khi đếm, xác định số lượng và màu sắc dịch, sau đó lắc nhẹ ống bệnh phẩm rồi hút dịch chia sang 2 ống nghiệm đều nhau. Tiến hành kỹ thuật với các trường hợp dưới đây:

### **1. Trường hợp không có tế bào trong dịch**

- Bước 1: Hút một ít dịch nhỏ lên lam kính và tiến hành soi tươi để xác định sự có mặt của tế bào trong dịch.
- Bước 2: Tiến hành trả lời kết quả xét nghiệm gồm các yếu tố: Số lượng dịch, màu sắc dịch và sự có mặt hay không tế bào trong dịch.

### **2. Trường hợp có tế bào trong dịch não tủy**

Nhỏ vào ống nghiệm thứ nhất 2-3 giọt acid axetic, lắc đều để phá vỡ hồng cầu. Sau đó lấy một giọt cho vào buồng đếm, để lắng 5 phút rồi đếm số lượng bạch cầu trên kính hiển vi:

- Với buồng đếm Nageotte: Loại buồng đếm để đếm tế bào trong dịch não tủy có thể tích chung  $50\text{mm}^3$ . Chia làm 40 băng, kẻ theo chiều ngang của buồng đếm, mỗi băng có thể tích  $1.25\text{mm}^3$ . Đếm số lượng bạch cầu trên 4 băng không liên tiếp (mỗi băng đếm cách 1 băng liền kề) được bao nhiêu, chia cho 5 để có số lượng bạch cầu trong  $1\text{mm}^3$  dịch.

- Với buồng đếm Gorjaep: Đếm số lượng bạch cầu trong các khu vực dùng để đếm bạch cầu, được bao nhiêu nhân với 62.5 rồi chia cho 25, ta được số lượng bạch cầu trong  $1\text{mm}^3$  dịch.

- Với buồng đếm Neubauer: Đếm số lượng bạch cầu ở khu vực dùng để đếm bạch cầu được bao nhiêu nhân 10 và chia cho 4, ta được số lượng bạch cầu trong  $1\text{mm}^3$  dịch.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Trường hợp kết quả bình thường**

Cần trả lời kết quả đầy đủ bao gồm:

- Số lượng dịch: bao nhiêu ml ;
- Dịch não tủy trong suốt;
- Không tìm thấy tế bào trong dịch.

### **2. Trường hợp có tế bào trong dịch não tủy**

#### **2.1. Số lượng tế bào <10 bạch cầu/1mm<sup>3</sup> dịch**

Cần trả lời kết quả đầy đủ gồm:

- Số lượng dịch: bao nhiêu ml;
- Dịch não tủy trong hay đục;
- Tìm thấy bao nhiêu tế bào có trong 1mm<sup>3</sup> dịch.

#### **2.2. Số lượng tế bào >10 bạch cầu/1mm<sup>3</sup> dịch**

Ly tâm ống nghiệm thứ 2 với tốc độ 300 vòng/phút x 5 phút. Hút bỏ phần nước trong ở trên, lấy cặn làm tiêu bản giọt dày, đường kính khoảng 2cm → để khô → cố định bằng cồn tuyệt đối → để khô rồi nhuộm Giemsa nồng độ tỷ lệ 1/10 trong 10 phút → rửa bằng nước thường (chú ý không dội trực tiếp nước vào phần bệnh phẩm, tránh làm bong tiêu bản) → sấy khô tiêu bản → đọc trên kính hiển vi bằng vật kính x 100 để lập công thức bạch cầu và trả lời kết quả xét nghiệm gồm:

- Số lượng dịch: bao nhiêu ml.
- Dịch não tủy trong hay đục.
- Số lượng bạch cầu: bao nhiêu bạch cầu/mm<sup>3</sup> hoặc bao nhiêu G/l bạch cầu.
- Thành phần bạch cầu:
  - + Tế bào bất thường;
  - + Bạch cầu đoạn trung tính;
  - + Bạch cầu lymphocyte;
  - + Bạch cầu ưa acid;
  - + Bạch cầu ưa bazơ;
  - + Bạch cầu monocyct/ đại thực bào.
- Tăng ít: Có 3-10 bạch cầu/1mm<sup>3</sup> dịch.
- Tăng vừa: Trên 10 bạch cầu/1mm<sup>3</sup> dịch.
- Tăng cao: Trên 100 bạch cầu/1mm<sup>3</sup> dịch.

- Tỷ lệ bạch cầu hạt tăng cao (thường >75%) thường gặp trong viêm màng não mủ do tụ cầu, phế cầu, não mô cầu.

- Tỷ lệ tăng cao (thường >75%) gặp trong viêm màng não do lao, virus...

- Khi thấy nhiều hồng cầu thì có thể do xuất huyết não, chấn thương sọ não...

- Trường hợp có nhiều tế bào trong dịch não tủy còn thể hiện sự thâm nhiễm tế bào của một số bệnh máu ác tính.

- Cũng có trường hợp gặp một số tế bào biểu mô, nấm, hoặc một số tinh thể.

Lưu ý: Khi dịch não tủy có máu thì có thể do chảy máu trong quá trình thực hiện thủ thuật, trường hợp này xét nghiệm tế bào thường không có giá trị vì các tế bào máu có lẫn trong dịch. Lúc đó trả lời kết quả gồm số lượng dịch, dịch có màu đỏ máu.

Dịch não tủy rất dễ bị nhiễm khuẩn nên ống nghiệm bệnh phẩm phải được đậy nút kín và đưa đến phòng xét nghiệm ngay sau khi lấy bệnh phẩm.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Nhầm bệnh phẩm, nhầm giấy xét nghiệm hoặc sai lệch thông tin giữa bệnh phẩm và giấy xét nghiệm;

- Dịch não tủy không được gửi đến phòng xét nghiệm ngay sau khi lấy;

- Không lắc đều bệnh phẩm trước khi đếm;

- Tiêu bản không đạt tiêu chuẩn.

# **XÉT NGHIỆM TẾ BÀO TRONG CÁC LOẠI DỊCH**

## **(phương pháp thủ công)**

### **(others fluid Test by manual method)**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Các loại dịch thường gặp gồm: Dịch màng tim, dịch màng phổi, dịch màng bụng và dịch khớp.

Xét nghiệm tế bào trong các dịch là xác định về sự có mặt, tỷ lệ và phân tích hình thái các tế bào có trong dịch nhằm hỗ trợ công tác chẩn đoán, theo dõi và điều trị bệnh.

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

Nghi ngờ viêm hoặc thâm nhiễm tế bào ác tính các màng: màng phổi, màng tim, màng bụng, dịch khớp.

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật y có kiến thức chuyên khoa.

##### **2. Phương tiện – Hóa chất**

###### **2.1. Dụng cụ**

- Kính hiển vi quang học;
- Máy ly tâm;
- Lam kính khô, sạch;
- Đũa thủy tinh dẹt một đầu;
- Bàn sấy hoặc quạt sấy tiêu bản;
- Pipette Pasteur và quả bóp ;
- Ống nghiệm nhỏ khô sạch;
- Khay inox quả đậu;
- Gạc sạch;
- Băng dính vải hoặc băng dính giấy;
- Dụng cụ lập công thức bạch cầu (bàn bấm hoặc đá xây dựng).

###### **2.2. Hóa chất**

- Cồn tuyệt đối;
- Dung dịch Giemsa mẹ;

- Nước cất;
- Dầu soi kính hiển vi.

### **3. Bệnh phẩm**

Là mẫu dịch đựng trong ống nghiệm sạch đảm bảo các điều kiện:

- Miệng ống nghiệm được đậy nắp kín.
- Ống nghiệm có đầy đủ thông tin hành chính về tên, tuổi, giường, khoa của người bệnh phù hợp với giấy xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Trước khi đếm, xác định số lượng và màu sắc dịch. Tiến hành kỹ thuật với các trường hợp dưới đây:

### **1. Trường hợp dịch lỏng (màng bụng, màng tim, màng phổi,...)**

- Bước 1. Để lắng tự nhiên hoặc ly tâm nhẹ (1000 vòng/phút trong 10 phút)
- Bước 2. Lấy cặn nhỏ một giọt lên tiêu bản kính sạch.
- Bước 3. Dùng que thủy tinh đầu nhọn dẹt di giọt bệnh phẩm theo hình tròn đồng tâm, đường kính 1,5 - 2 cm.
- Bước 4. Để khô tự nhiên, cố định bằng cồn tuyệt đối, nhuộm Giemsa với tỷ lệ 1/5 trong 5-7 phút.
- Bước 5. Làm khô tiêu bản và nhận định kết quả.

### **2. Trường hợp dịch đặc và quánh**

- Bước 1. Nếu dịch có độ nhớt tương đương với máu thì làm tiêu bản giọt đàn như tiêu bản máu. Cố định và nhuộm như tiêu bản máu.
- Bước 2. Nếu dịch quánh, đặc: Dùng tăm bông lấy chất dịch cho lên tiêu lam kính. Dùng lam kéo dàn tiêu bản như làm tiêu bản máu đàn hoặc dùng tăm bông di nhẹ như làm tiêu bản giọt đặc.
- Bước 3. Để khô, đánh dấu, cố định và nhuộm.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Sau khi có tiêu bản, việc nhận định kết quả được tập trung vào các tiêu chí nhận xét.

- Màu sắc của dịch.
- Đánh giá về sự có mặt của tế bào trên tiêu bản nhuộm Giemsa (giàu hay nghèo tế bào).
- Phân tích đặc điểm hình thái của các loại tế bào có trong dịch.

- Kết luận sau khi phân tích hình thái tế bào (nếu đủ điều kiện).

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Nhầm bệnh phẩm, nhầm giấy xét nghiệm hoặc sai lệch thông tin giữa bệnh phẩm và giấy xét nghiệm.
  - Bệnh phẩm không được gửi đến phòng xét nghiệm ngay sau khi lấy.
  - Không lắc đều bệnh phẩm trước khi tiến hành kỹ thuật.
  - Tiêu bản không đạt tiêu chuẩn.
  - Thời gian nhuộm và nồng độ thuốc nhuộm không phù hợp.

# **XÉT NGHIỆM TẾ BÀO NƯỚC TIỂU**

## **(phương pháp thủ công)**

### **(Urine cells test by manual method)**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Bình thường nước tiểu chỉ có một số tế bào biểu mô và cặn theo biểu hiện sinh lý của cơ thể. Khi có dấu hiệu bệnh lý ở hệ tiết niệu sẽ có biểu hiện có nhiều tế bào hoặc tinh thể trong nước tiểu. Xét nghiệm tế bào trong nước tiểu theo phương pháp thủ công là xác định định tính các tế bào hoặc cặn, tinh thể có trong nước tiểu. Xét nghiệm này góp phần quan trọng trong công tác chẩn đoán, theo dõi và điều trị bệnh.

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm cơ bản.

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

01 Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân kỹ thuật y có kiến thức chuyên khoa.

##### **2. Phương tiện- Hóa chất**

###### **2.1. Dụng cụ**

- Kính hiển vi quang học;
- Khay hạt đậu;
- Lam kính khô sạch;
- Pipette Pasteur;
- Gạc hút;
- Giá cầm ống nước tiểu.

###### **2.2. Hóa chất**

Không có

##### **3. Bệnh phẩm**

Là mẫu nước tiểu được gửi đến phòng xét nghiệm từ bệnh phòng hoặc lấy trực tiếp tại nơi khám bệnh.

Bệnh phẩm phải đạt yêu cầu:

- Phù hợp thông tin của giấy xét nghiệm và ống nghiệm.
- Không có dị vật khác trong ống nghiệm.



- Bệnh phẩm nước tiểu mới bài tiết thường trong và có màu vàng nhạt do có sắc tố urobilin, để lắng một thời gian sẽ có màu vẩn đục do tế bào thượng bì và chất nhầy mucin tạo nên, ngoài ra còn do một số cặn uric, urat, phosphat,.. hoặc do protein, do mỡ, hoặc màu đỏ do lẫn máu, màu nâu do đái nhiều urobilin, màu vàng xẫm khi có nhiều bilirubin.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Để lắng 1-2 giờ kể từ khi nhận bệnh phẩm từ bệnh phòng. Trường hợp bệnh phẩm mới lấy, cần làm xét nghiệm ngay → đảo đều bệnh phẩm bằng Pipette paster → hút 5ml vào ống nghiệm sạch → ly tâm 2000 vòng/phút x 10 phút.

- Đổ phần trên (thao tác đổ dứt khoát), hút một giọt cặn, nhỏ lên phiến kính (hoặc lắc kỹ phần cặn → đổ trực tiếp từ ống nghiệm vào lam kính và kéo dài miệng ống nghiệm tạo thành tiêu bản nước dịch) và di đều lên lam kính → chờ 1-2 phút cho bệnh phẩm ổn định → đặt lên kính hiển vi đọc bằng vật kính x10.

- Kiểm tra tối thiểu 10 vi trường theo đường rích rắc để đánh giá trung cho cả cặn và tế bào.

### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

#### **1. Tế bào**

- Hồng cầu:

Ít : dưới 5 hc / vi trường

(+) : 5- 10 hc/ vi trường

(++) : 10 - 20 hc /vi trường

(+++): trên 20 hc /vi trường

- Bạch cầu:

Ít : dưới 10 bc / vi trường

(+) : 10 - 20 bc/ vi trường

(++) : trên 20 bc/ vi trường

(+++): trên 50 bc/ vi trường

- Tinh trùng: đánh giá định tính dựa trên mật độ tinh trùng có trong nước tiểu từ mức độ rải rác, (+) → (+++++) và dày đặc.

- Tế bào biểu mô niệu đạo: Tế bào to hình đa diện, nhân rõ.

- Tế bào biểu mô bàng quang: Tế bào to hình vệt, nhân rõ.

- Tế bào biểu mô thận: Tế bào to trung bình, hình bầu dục, nhân tròn rõ.

**2. Trụ niệu:** cấu tạo bởi chất nhầy, tế bào của máu khi qua ống thận, đọng lại và mang khuôn của ống thận. Dựa vào thành phần cấu tạo người ta chia 2 loại trụ:

**2.1. Trụ không có tế bào gồm**

- Trụ trong: Còn gọi là trụ thấu quang, hình dài, bờ nhẵn, trong suốt. nước tiểu bình thường thải ra 3000 trụ trong vòng 12 giờ, trụ này tăng khi lao động nặng, sốt, sau gây mê bằng ether; gặp nhiều có thể nghĩ do viêm thận.

- Trụ sáp (trụ keo): Ngắn và to hơn trụ trong, óng ánh do chiết quang nhiều, màu xám, thường có vết nứt; người ta cho rằng do nằm lâu trong ống thận nên bị khô và tạo thành trụ sáp.

- Trụ xơ: Màu vàng nhạt, trông như có nhiều sợi ghép lại và kéo dài, thường gặp trong viêm thận cấp.

- Trụ mỡ: Do bào tương tế bào thoái hóa, hoặc do mỡ trong máu bài tiết ra tạo thành; các hạt mỡ hiện rõ trên thân trụ, thường gặp trong thận nhiễm mỡ.

**2.2. Trụ có tế bào**

Thường gặp trong viêm cầu thận.

- Trụ hạt: Giống như trụ trong nhưng trên mặt có những hạt to nhỏ bám lên, do các tế bào hoặc các hạt cholesterol của các tế bào thoái hóa tạo thành, thường gặp trong viêm thận cấp.

- Trụ biểu mô: Còn gọi là trụ liên bào gồm những tế bào ở ống thận tạo thành.

- Trụ mũ hay trụ bạch cầu: Do bạch cầu hạt thoái hóa tạo thành, thường đứt thành đoạn ngắn.

- Trụ hồng cầu còn gọi là trụ máu: Do hồng cầu kết tụ, bờ trụ thường lờm chờm không đều.

- Trụ vi khuẩn (ít gặp): Do vi khuẩn tạo nên.

*khi đọc bằng vật kính x 10, trụ được đánh giá như sau:*

(-) : không có trụ

(+) : 1 trụ / 100 vi trường

(++) : 1 trụ / 1 vi trường

(+++): 10 trụ / 1 vi trường

(++++): 100 trụ / 1 vi trường

**3. Cận tinh thể**

Đánh giá định tính dựa trên sự có mặt các loại cận, tinh thể có trong bệnh phẩm, từ rải rác, (+) → (+++++) và dày đặc, thường gặp các loại sau:

- Sulfatcalci: hình kim dài, hoa thị, không màu.
- Oxalatcalci: hình phong bì, bánh qui, kích thước 10 - 20  $\mu\text{m}$ , hình củ lạc khoảng 50  $\mu\text{m}$ , rất chiết quang.
- Cacbonatcalci: hình cầu, tan trong acid.
- Cặn phosphat: hình chữ nhật, lá dương xỉ, hình sao. kích thước 30 - 150  $\mu\text{m}$ , không màu, chiết quang.
- Aciduric: hình thoi, mũi giáo, hoa thị cánh nhọn, hình ngôi sao, màu vàng hay nâu đỏ.
- Amoniurat: hình cầu gai, xương rồng, hình bó kim, kích thước 20  $\mu\text{m}$ , màu vàng, chiết quang.
- Phosphatricalci: hạt nhỏ, không có hình thù nhất định, tan trong acid.
- Sunfadiazin: hình bó mạ, hình chổi.
- Sunfathiazon: hình lục lăng.
- Sunfa pyridin: hình lá đu đủ.
- Cholesterol: là những bản mỏng, không màu trong suốt, chồng lên nhau.
- Phosphatdicalci: hình tam giác, góc nhọn, chụm thành hình hoa thị.

Có thể tham khảo, đối chiếu với các hình ảnh dưới đây để kết luận khi thực hiện xét nghiệm:

## NƯỚC TIỂU

| TẾ BÀO |              | TINH THỂ |                              |
|--------|--------------|----------|------------------------------|
|        | Trụ trong    |          | Hồng cầu                     |
|        | Trụ bạch cầu |          | Bạch cầu                     |
|        | Trụ mỡ       |          | Hạt mỡ                       |
|        | Trụ hạt      |          | Tế bào biểu mô thận          |
|        | Trụ xơ       |          | Tế bào biểu mô bàng quang    |
|        | Tinh trùng   |          | Tế bào biểu mô niệu đạo      |
|        |              |          | Tinh thể carbonatcanxi       |
|        |              |          | Tinh thể amonimagiê photphat |
|        |              |          | Tinh thể Dicanxi photphat    |
|        |              |          | Tinh thể Tricanxi photphat   |
|        |              |          | Tinh thể Oxalatcanxi         |
|        |              |          | Tinh thể Canxi sulfat        |
|        |              |          | Tinh thể Sulfadiazin         |
|        |              |          | Tinh thể Sulfapyridin        |
|        |              |          | Tinh thể Axetyl sulfanilamid |
|        |              |          | Tinh thể Amoni urat          |

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Trong xét nghiệm này, ngoài các tiêu chí nhận định kết quả của các loại tế bào thì việc nhận định kết quả các loại cặn, tinh thể có mặt trên các vi trường quan sát cũng rất quan trọng. Vì vậy, kinh nghiệm của người làm kỹ thuật góp phần tích cực đến kết quả xét nghiệm. Các ảnh hưởng không tốt tới kết quả xét nghiệm được ghi nhận thường gặp ở các trường hợp:

- Bệnh phẩm để quá lâu mới mang tới phòng xét nghiệm (>3 giờ) và khi đó thường có biểu hiện nhiễm khuẩn.
- Sự trung thực của người lấy mẫu (có thể lẫn nước hoặc nguyên nước khi không muốn đi tiêu).
- Kỹ năng, kinh nghiệm của nhân viên thực hiện xét nghiệm.

# **XÉT NGHIỆM TẾ BÀO NƯỚC TIỂU**

## **(Bằng máy tự động)**

(Urine cells Test by automatic analyzer)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Xét nghiệm tế bào nước tiểu bằng máy tự động là kỹ thuật xét nghiệm hiện đại thể hiện sự tiến bộ khoa học và đồng bộ kỹ thuật chuyên môn. Mẫu nước tiểu sẽ được phân tích hoàn toàn nhờ khả năng hút mẫu – chụp ảnh và phân tích tế bào hoàn toàn tự động, dựa vào ngân hàng dữ liệu được cài đặt sẵn trong ổ cứng máy tính.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm cơ bản.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật y học.

#### **2. Phương tiện, dụng cụ**

##### **2.1. Dụng cụ**

- Giá cầm ống bệnh phẩm
- Ống nghiệm đựng nước tiểu có kích thước phù hợp với máy xét nghiệm.
- Cuvette phù hợp với máy xét nghiệm
- Dụng cụ vệ sinh vị trí xét nghiệm (gạc, nước sát khuẩn, cồn 70°).

##### **2.2. Hóa chất**

Dung dịch rửa phù hợp với máy.

##### **2.3. Máy và trang thiết bị**

a. Trước khi bật máy

- Bỏ sung cuvette (nếu cần)
    - Tạm tháo bỏ nắp cánh và phần giữ cuvette.
    - Bỏ sung hộp cuvette mới.
    - Kéo tháo bỏ dây băng ở đáy hộp.
    - Đóng cửa máy phía trước.
  - Kiểm tra, đặt một túi nilon hoặc khăn giấy trong khay thải cuvette.
  - Kiểm tra an toàn nguồn điện.
- b. Bật máy
- Bật lần lượt theo thứ tự sau.

- Mở cổng kết nối (nếu sử dụng hệ thống LIS)
- Bật nút nguồn của máy xét nghiệm.
- Bật máy tính PC và màn hình.
- Phần mềm sẽ tự động kích hoạt sau khi cửa sổ (Windows) khởi động.  
Nếu có cửa sổ Login thì nhập tên người dùng (Username) và mật khẩu (Password).
- Hệ thống sẽ tự động kết nối và khởi động  
Nếu các đèn báo trên màn hình có màu xanh, báo hiệu máy sẵn sàng làm việc.

**3. Bệnh phẩm:** Mẫu nước tiểu được gửi đến từ bệnh phòng hoặc lấy trực tiếp tại nơi khám bệnh.

Bệnh phẩm đạt yêu cầu:

- Phù hợp thông tin giữa giấy xét nghiệm và ống nghiệm.
- Không có dị vật trong ống nghiệm.
- Bệnh phẩm nước tiểu mới bài tiết thường trong và có màu vàng nhạt do có sắc tố urobilin, để lắng một thời gian sẽ có màu vẩn đục do tế bào thượng bì và chất nhầy mucin tạo nên, ngoài ra còn do một số cặn uric, urat, phosphat hoặc do protein, do mỡ hoặc do lẫn máu, màu nâu do đái nhiều urobilin, màu vàng sẫm khi có nhiều bilirubin.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm có nội dung chỉ định phù hợp và có chữ ký của Bác sĩ ra chỉ định.

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Chạy thường quy (đo bệnh phẩm)**

- Đặt khay bệnh phẩm vào máy.
  - Đặt ống bệnh phẩm vào rack.
  - Cần ít nhất 2ml bệnh phẩm để đo.
  - Đặt tube vào rack với mặt barcode quay ra phía khe đọc.
  - Nhãn barcode nên đặt với độ cao phù hợp
- Nếu chạy theo thứ tự (Worklist) việc nhập đầu vào cho xét nghiệm được tuân thủ theo chương trình cụ thể của máy.
- Chọn chế độ phân tích mẫu tự động (Auto Sample) hoặc mẫu chạy bằng tay (Manual Sample) theo chủ trương của Labo xét nghiệm.
- Chọn [START] để bắt đầu đo.

Bệnh phẩm sẽ được đo một cách tuần tự và có thể dừng máy bằng cách chọn ấn [STOP].

Quá trình đo có thể không dừng một cách ngay tức khắc. Bệnh phẩm cuối cùng được hút từ ống nghiệm có thể vẫn sẽ tiếp tục đo trước khi có lệnh stop máy.

- Khi có kết quả xét nghiệm, mỗi bệnh phẩm tương ứng với một dòng mới khi được đo. Dòng tương ứng người bệnh này cũng hiển thị ngày giờ đo, số rack, số ống, ID, tên người bệnh và trạng thái đo.
- Kết quả có thể được xem xét và chỉnh sửa theo chương trình của máy xét nghiệm cụ thể.

## **2. Cuối ngày làm việc:** Tắt phần mềm và vệ sinh máy

- Thực hiện rửa tự động hàng ngày.
- Bỏ tất cả bệnh phẩm ra khỏi khay.
- Chạy chương trình rửa máy với hóa chất phù hợp
- Vệ sinh khay cuvette, trong lúc máy đang thực hiện chu trình rửa hàng ngày.
- Tắt máy:
  - Tắt máy xét nghiệm
  - Tắt máy tính.
- Vệ sinh khay chứa cuvette thải:
  - Mở khay chứa cuvette thải và rút khỏi chốt.
  - Bỏ hết cuvette bẩn ra khỏi khay một cách vệ sinh.
  - Thực hiện vệ sinh khay
  - Lắp lại khay thải cuvette và đóng cửa trước.
- Đổ bình nước thải:
  - Mở can thải, cẩn thận với các dây và ống dây.
  - Đổ nước thải khỏi can một cách vệ sinh.
  - Lắp lại can thải vào đúng vị trí.

## **3. Vệ sinh hàng tuần**

- Vệ sinh khay chuyển rack:
  - Tháo khay chuyển rack ra khỏi máy.
  - Lau sạch bằng gạc hoặc khăn sạch thấm với dung dịch khử khuẩn
  - Lắp lại khay.
- Vệ sinh thấu kính:
  - Xoay cánh tay kính hiển vi về một phía để có thể quan sát thấy thấu kính.
  - Vệ sinh nhẹ nhàng bằng gạc sợi mềm với cồn eltylic tuyệt đối.
  - Xoay trả lại vị trí cánh tay.
  - Đóng cánh cửa trước.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Nhấp đúp vào bất kỳ một dòng kết quả nào đó, ta có thể thấy tập hợp ảnh đo được của bệnh phẩm đó. Thư viện ảnh này cũng có thể mở bằng cách kích chọn dòng kết quả. Sau khi xem xong ấn [CLOSE] để thoát.

- Chỉnh sửa thông tin người bệnh hoặc kết quả xét nghiệm bằng cách nhấp đúp lên hình ảnh đo của bệnh phẩm và thao tác tùy theo giao diện của từng máy. Sau đó nhấp [CLOSE] để đóng lại.

- Để chuyển một kết quả tới LIS (Laboratory Information System – Hệ thống thông tin của phòng thí nghiệm), chọn [OUTPUTS] (xuất), sau đó chọn [TRANSFER](chuyển).

+ Để in một kết quả chọn [OUTPUTS] \ [PRINT] (xuất\in).

+ Để xuất một dữ liệu chọn [OUTPUTS] \ [EXPORT] (xuất dữ liệu).

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Trong xét nghiệm này, việc sử dụng máy đòi hỏi tính ổn định và đồng bộ cả về dụng cụ, hóa chất và điều kiện làm việc. Vì vậy ở phòng xét nghiệm thường xảy ra một số ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm như:

- Nguồn điện không ổn định

- Nạp mẫu không đủ theo quy định hoặc bị sai bệnh phẩm với thông tin người bệnh.

- Dụng cụ không phù hợp với máy mà phòng xét nghiệm có (cuvette, ống nghiệm).

- Công tác bảo dưỡng không được thực hiện định kỳ (bảo dưỡng hàng ngày, hàng tuần...).

- Có sự sai khác về chương trình của máy xét nghiệm.



**ĐẾM SỐ LƯỢNG TIỂU CẦU BẰNG MÁY ĐẾM TỰ ĐỘNG THEO  
NGUYÊN LÝ TRỞ KHÁNG VÀ LASER; QUAN SÁT ĐỘ TẬP TRUNG  
TIỂU CẦU TRÊN TIÊU BẢN MÁU NGOẠI VI**  
**(Platelet count by automatic machine, observe platelet concentration on  
blood peripheral)**

**I. NGUYÊN LÝ**

- Đếm số lượng tiểu cầu trong một thể tích máu nhất định từ đó tính số lượng tiểu cầu có trong 1 lít máu toàn phần bằng máy tổng trở và laser dựa trên kích thước tiểu cầu và mật độ quang của tiểu cầu.

- Dựa trên đặc tính kết dính và ngưng tập của tiểu cầu trong mạch máu từ đó tiến hành kéo tiêu bản trực tiếp từ máu mao mạch để quan sát độ tập trung của tiểu cầu.

**II. CHỈ ĐỊNH**

- Xét nghiệm cơ bản;
- Nghi ngờ bệnh lý chức năng tiểu cầu.

**III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

**IV. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

01 Kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật y học chuyên khoa.

**2. Phương tiện - Hóa chất**

- Máy đếm tế bào tự động;
- Ống nghiệm được chống đông bằng EDTA;
- Lam kính;
- Bơm tiêm vô khuẩn;
- Cồn sát trùng;
- Hóa chất nhuộm Giemsa.

**3. Bệnh phẩm.**

Là mẫu bệnh phẩm được mang đến từ các khoa phòng xét nghiệm hoặc khoa lâm sàng.

**4. Phiếu xét nghiệm.**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Lấy 2ml máu tĩnh mạch bằng bơm tiêm vô khuẩn cho vào ống nghiệm đã được chống đông bằng EDTA. Lắc đều.

- Bật máy đếm tế bào tự động.

- Kiểm tra hóa chất sử dụng.

- Chọn chế độ chạy (tùy loại máy và yêu cầu xét nghiệm)—> Enter (chọn).

- Lắc đều ống nghiệm, đưa ống nghiệm đến kim hút.

- Nhấn “Start” (Khởi động) khi chắc chắn bơm hút ở trong ống nghiệm và đầu kim hút ngập trong máu, đưa ống nghiệm ra khi máy báo “tít tít”.

- In kết quả và đọc kết quả: Các chỉ số tiểu cầu được biểu thị bằng các chỉ số PLT, MPV, PDW.

- Dùng kim chích máu (Lancet), chích máu ở đầu ngón tay (thường lấy ở ngón nhẫn), nhỏ giọt máu ra lam kính sạch. Kéo tiêu bản và nhuộm Giemsa. Đọc độ tập trung tiểu cầu trên lam kính bằng kính hiển vi quang học.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Dựa vào các chỉ số: PLT: Số lượng tiểu cầu (bình thường 150 – 450 G/l), PDW, MPV (bình thường 7 - 9 fL)

- Độ tập trung tiểu cầu đọc trên kính hiển vi quang học. Bình thường tiểu cầu tập trung thành từng cụm nhỏ, khoảng 5 - 10 tiểu cầu. Khi tập trung tiểu cầu thành đám lớn —> độ tập trung tiểu cầu tăng. Khi tiểu cầu đứng rải rác —> độ tập trung tiểu cầu giảm, thường gặp khi số lượng tiểu cầu giảm.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Có thể đếm nhầm hồng cầu kích thước nhỏ thành tiểu cầu (MCV nhỏ < 60fL). Nếu nghi ngờ cần kéo tiêu bản so sánh với số đếm tiểu cầu trên máy tự động.

- Kéo tiêu bản dùng máu đã chống đông sẽ không đánh giá được chính xác độ tập trung tiểu cầu.

# **TÌM HỒNG CẦU CÓ CHẤM ƯA BASE**

## **(Basophilic stippling Test)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Trong bệnh Thalassemia, thiếu máu do rượu, thiếu máu nguyên hồng cầu không lồ, nhiễm độc chì hoặc arsenic có sự ngưng tập của ribosome mịn, bắt màu xanh thẫm hoặc tím, kích thước không đều trong hồng cầu trên tiêu bản nhuộm giemsa.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

- Nghi ngờ bệnh Thalassemia;
- Các thiếu máu chưa rõ nguyên nhân.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Cán bộ thực hiện:**

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học – Truyền máu.

#### **2. Phương tiện – Hóa chất**

##### **2.1 Dụng cụ**

- Lam kính: khô, sạch, không mỡ, không mốc, không sút mẻ;
- Lam kéo: khô, sạch, không mẻ, không xước, 2 đầu bẻ góc 2mm;
- Bút chì thường, bút chì kính;
- Bể nhuộm, giá nhuộm;
- Bàn sấy tiêu bản, máy sấy tiêu bản;
- Giá gỗ cắm đứng tiêu bản;
- Pipette Pasteur;
- Quả bóp, gạc, que thủy tinh;
- Kính hiển vi quang học.

##### **2.2 Hóa chất**

- Cồn tuyệt đối;
- Giemsa;
- Dung dịch pha loãng, nước trung tính hoặc nước cất.

#### **3. Bệnh phẩm**

- Máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA;
- Máu mao mạch lấy trực tiếp từ đầu ngón tay

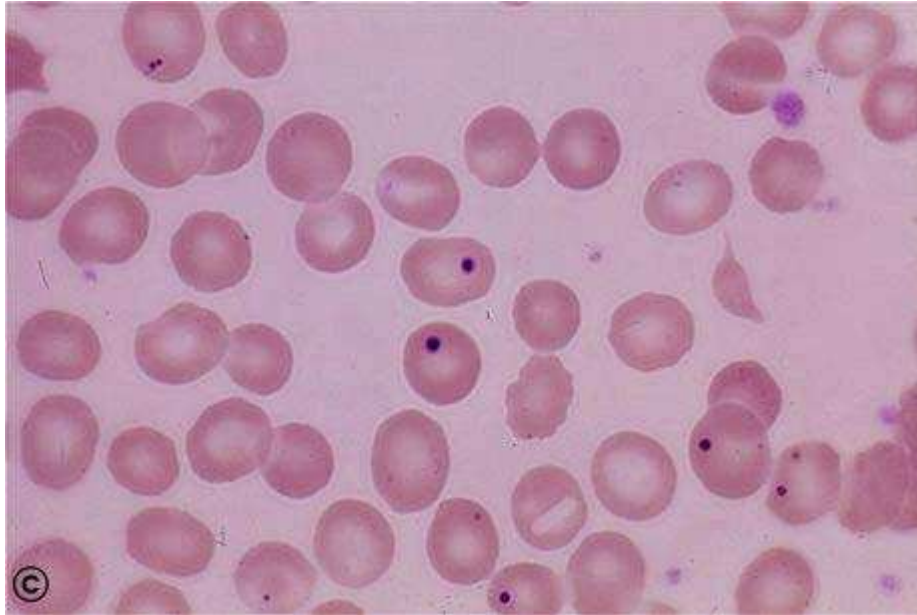
#### **4. Phiếu xét nghiệm.**

#### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Làm tiêu bản giọt đàn
- Nhuộm lam
- Nhận định kết quả

#### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Quan sát hình thái tế bào hồng cầu (màu hồng đậm), tìm và nhận định những chấm mịn, bắt màu xanh thẫm hoặc tím, kích thước không đều (hình sau).



#### **VII. MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN KẾT QUẢ**

- Lam kính, lam kéo không đạt tiêu chuẩn;
- Kéo quá nhanh làm tiêu bản dày quá hoặc mỏng quá hoặc lượn sóng;
- Cồn, Giemsa không đủ tiêu chuẩn;
- Thời gian nhuộm không đảm bảo.

# **TÌM MẢNH VỠ HỒNG CẦU**

## **(Red cell fragment Test)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Do hồng cầu vỡ trong cục máu đông (trong các bệnh có đông máu rải rác trong lòng mạch-DIC), mạch máu bị tổn thương, qua van tim nhân tạo, bệnh lý vi mạch, bong nặng, sau ghép thận, viêm cầu thận... Vì vậy, tìm mảnh vỡ hồng cầu trên tiêu bản nhuộm Giemsa góp phần chẩn đoán bệnh.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Nghi ngờ có tan máu.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học – Truyền máu.

#### **2. Phương tiện – Hóa chất**

##### **2.1. Dụng cụ**

- Lam kính: khô, sạch, không mỡ, không mốc, không sút mẻ;
- Lam kéo: khô, sạch, không mẻ, không xước, 2 đầu bẻ góc 2mm;
- Bút chì thường, bút chì kính;
- Bể nhuộm, giá nhuộm;
- Bàn sấy tiêu bản, máy sấy tiêu bản;
- Giá gỗ cắm đứng tiêu bản;
- Pipette Pasteur;
- Quả bóp, gạt, que thủy tinh;
- Kính hiển vi quang học.

##### **2.2. Hóa chất**

- Cồn tuyệt đối;
- Giemsa;
- Dung dịch pha loãng, nước trung tính hoặc nước cất.

#### **3. Bệnh phẩm**

- Máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA;
- Máu mao mạch lấy trực tiếp từ đầu ngón tay.

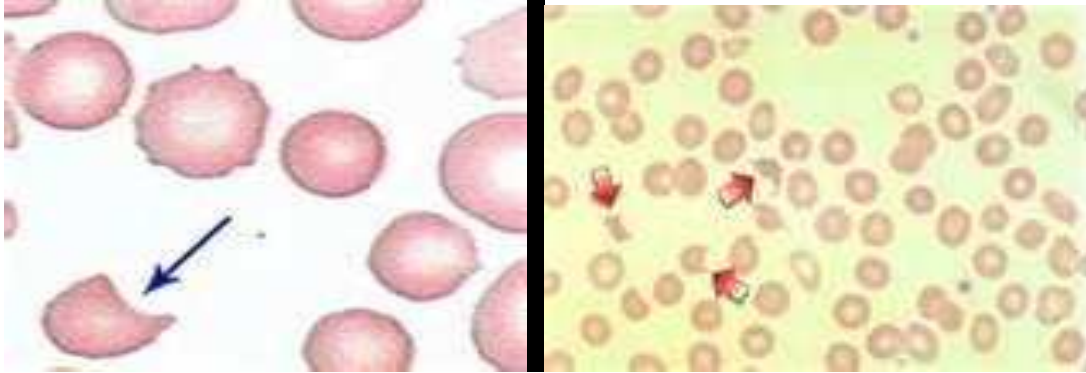
#### **4. Phiếu xét nghiệm**

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Làm tiêu bản giọt đàn;
- Nhuộm lam.

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Quan sát hình thái tế bào hồng cầu (màu hồng đậm), tìm và nhận định những tế bào có hình dạng bất thường như hình sau:



## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Lam kính, lam kéo không đạt tiêu chuẩn;
- Kéo quá nhanh làm tiêu bản dày quá hoặc mỏng quá hoặc lượn sóng;
- Cồn, Giemsa không đủ tiêu chuẩn;
- Thời gian nhuộm không đảm bảo.

# **XÉT NGHIỆM HỒNG CẦU LƯỚI**

(bằng máy đếm tế bào tự động)

(Reticulocyte automatic count)

## **I. NGUYÊN LÝ**

Hồng cầu lưới là giai đoạn trung gian giữa hồng cầu có nhân và hồng cầu trưởng thành. Hình ảnh mạng lưới là tàn dư của ARN riboxom được bắt màu bởi thuốc nhuộm fluorochromes.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

- Xét nghiệm cơ bản.
- Các trường hợp thiếu máu và đang điều trị bệnh máu.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **VI. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên tế bào.

### **2. Dụng cụ - Hóa chất**

#### **2.1. Dụng cụ**

- Máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA;
- Máy đếm tế bào laser.

#### **2.2. Hoá chất**

Dung dịch thuốc nhuộm fluorochromes thương mại.

### **3. Bệnh phẩm**

Là mẫu bệnh phẩm được gửi đến từ các phòng xét nghiệm hoặc các khoa lâm sàng.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

## **IV. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Chuẩn bị mẫu**

máu được lấy cho vào ống nghiệm chống đông bằng EDTA, mỗi lần phân tích máy sẽ tự động lấy 50µm.

### **2. Bật máy và chọn chế độ phân tích**

- Bật máy bằng nút ON (Bật) ở phía sau thân máy.
- Sau khi khởi động, máy sẽ tự động rửa từ 3 đến 5 lần, sau đó sẽ phân tích mẫu trắng.

- Chọn chế độ phân tích bằng phím MODE, chọn chế độ chạy hồng cầu lưới R, bấm phím ENTER.

- Nhập số thứ tự mẫu bấm phím SAMPLE NO (Thứ tự mẫu), nhập số thứ tự từ bàn phím, bấm ENTER (Chọn).

### **3. Phân tích mẫu**

- Lắc đều ống nghiệm đựng mẫu khoảng 10 lần.
- Mở nắp đậy ống nghiệm.
- Đưa ống nghiệm vào kim hút và nhấn nút START (Khởi động).
- Máy sẽ hút mẫu, sau hai tiếng bíp, màn hình sẽ hiện ra dòng chữ ANALYSING (đang phân tích mẫu), khi đó rút ống nghiệm ra khỏi kim hút, máy sẽ bắt đầu phân tích.

- Khi kết thúc quá trình phân tích, trên màn hình sẽ hiện ra kết quả và máy sẽ thông báo READY (sẵn sàng) cho phân tích mẫu tiếp theo.

### **V. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Kết quả được hiển thị trên màn hình.
- In kết quả bằng máy in gắn sẵn.

### **VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Lắc không đều ống nghiệm.



**XÉT NGHIỆM HỒNG CẦU LƯỚI**  
(Bằng kỹ thuật nhuộm xanh sáng Cresyl)  
(Reticulocyte count by Cresyl's stain)

**I. NGUYÊN LÝ**

Hồng cầu lưới là giai đoạn trung gian giữa hồng cầu có nhân và hồng cầu trưởng thành. Hình ảnh mạng lưới là tàn dư của ARN riboxom được bắt màu bởi thuốc nhuộm đặc biệt xanh cresyl.

**II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp thiếu máu và đang điều trị bệnh máu.

**III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

**IV. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên tế bào.

**2. Phương tiện - Hóa chất**

**2.1. Dụng cụ**

- Máu tĩnh mạch chống đông bằng EDTA;
- Ống nghiệm khô sạch có nút;
- Tiêu bản kính, tiêu bản kéo khô, sạch;
- Pipette Pasteur;
- Tủ ấm hoặc Bain marrie;
- Kính hiển vi quang học.

**2.2. Hoá chất**

Thuốc nhuộm xanh cresyl bão hoà.

**3. Bệnh phẩm**

Là mẫu bệnh phẩm được gửi đến từ các phòng xét nghiệm hoặc các khoa lâm sàng.

**4. Phiếu xét nghiệm**

**V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Dùng pipette nhỏ 2 giọt máu vào ống nghiệm.
- Dùng pipette khác nhỏ 2 giọt thuốc nhuộm xanh cresyl bão hoà vào ống nghiệm.

- Lắc đều ống nghiệm, để ống nghiệm vào Bain marrie 37°C trong 20 phút.

- Lắc đều ống nghiệm, dùng pipette nhỏ 1 giọt máu trên lam kính, làm tiêu bản máu dàn mỏng, để tiêu bản khô tự nhiên trong khoảng 15 đến 20 phút.

- Đặt tiêu bản lên kính hiển vi quang học, dưới vật kính dầu 100, hồng cầu lưới bắt màu thuốc nhuộm xanh cresyl có dạng lưới mỏng màu xanh ngọc.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Tính tỷ lệ hồng cầu lưới trên 100 hồng cầu trưởng thành.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Lắc không đều ống nghiệm khi ủ và khi làm tiêu bản.
- Thuốc nhuộm kém chất lượng.
- Đọc nhầm thể vùi.

# **XÉT NGHIỆM TÌM TẾ BÀO HARGRAVE**

## **(Hargrave cell Test)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Kháng thể kháng nhân tự sinh trong huyết thanh kết hợp với kháng nguyên tương ứng của màng nhân tế bào, dưới tác động của bổ thể, làm tổn thương màng nhân, tạo thành khối thuần nhất. Bạch cầu trung tính thực bào phức hợp này tạo ra tế bào Hargrave.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Nghi ngờ bệnh hệ thống.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 Kỹ thuật viên

#### **2. Phương tiện - Hóa chất**

- Bơm tiêm 3ml;
- Ống nghiệm 5ml;
- Máy lắc ống nghiệm;
- Bi nhựa nhỏ;
- Bộ dụng cụ làm tiêu bản máu đàn;
- Bộ dụng cụ và hóa chất nhuộm Giemsa;

#### **3. Bệnh phẩm**

Máu tĩnh mạch.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch (chống đông bằng heparin- 20 đơn vị/ml).
- Trộn đều, để bơm tiêm thẳng đứng quay kim lên trên trong 60 phút.
- Bẻ cong kim, bơm nhẹ nhàng một nửa phần huyết tương ra một ống nghiệm khô và sạch (ống 1). Phần lắng giữa khối hồng cầu và huyết tương được bơm ra một ống nghiệm khác, trộn đều và được chia thành hai phần: một nửa để nguyên (ống 2), còn một nửa đem lắc bi trong 15 phút (ống 3).
- Hòa lẫn ống 1, ống 2, ống 3. Lắc trộn đều nhẹ nhàng, ủ 37°C trong 60 phút.

- Lắc đều, ly tâm nhẹ lấy cặn kéo 4 tiêu bản và nhuộm Giemsa như tiêu bản máu đàn.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Tế bào Hargrave được tạo ra do bạch cầu đoạn trung tính thực bào một nhân đang thoái hóa.

- Trên tiêu bản nhuộm Giemsa: Nhân thoái hóa là một khối thuần nhất tròn, to, màu gạch non. Các đoạn nhân của bạch cầu thực bào bị đẩy dạt ra xung quanh khối thuần nhất tạo nên hình “hoa hồng”. Bào tương của bạch cầu đoạn trung tính thực bào rất mờ nhạt, khó quan sát.

- Phải đọc ít nhất 2 tiêu bản mới đủ kết luận. Khi trả lời kết quả thì trả lời là có hay không tìm thấy tế bào Hargrave. Nếu có thì mỗi tiêu bản có bao nhiêu tế bào Hargrave (tính trung bình).

# XỬ LÝ BỆNH PHẨM SINH THIẾT VÀ CHẨN ĐOÁN MÔ HỌC

## I. NGUYÊN LÝ

Là kỹ thuật làm tiêu bản và phương pháp nhuộm để phát hiện các bất thường của tổ chức hạch, lách, tủy xương giúp chẩn đoán các bệnh lý tủy xương liên quan.

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

01 Kỹ thuật viên hoặc cử nhân kỹ thuật chuyên khoa Huyết học – Truyền máu.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

#### 2.1 Dụng cụ

- Máy cắt tiêu bản;
- Bàn sấy 37°C;
- Kính hiển vi quang học;
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 100ml: 06 chiếc;
- Bể nhuộm tiêu bản dung tích 200ml: 06 chiếc;
- Giá cài tiêu bản vừa bể nhuộm 200ml: 01 chiếc;
- Giá gỗ cài tiêu bản: 02 chiếc;
- Pipette Pasteur: 04 chiếc;
- Gạc thấm nước: 03 chiếc;
- Bút chì hoặc bút viết kính: 01 chiếc;
- Lamén 22 x 24 hoặc 22 x 22.

#### 2.2 Hóa chất

- Toluene 1,2,3: để sẵn trong 3 bể nhuộm 100ml;
- Cồn tuyệt đối Etylic 1,2,3 để sẵn trong bể nhuộm 100ml;
- Cồn 80° pha sẵn và để trong bể 100ml;
- Dung dịch Hematoxylin (thành phẩm): để sẵn trong bể 200 ml;
- Dung dịch Erythrosin: để sẵn trong bể nhuộm 200 ml;
- Axit HCL %: Để trong bể nhuộm 200 ml;
- Boom Canada: Lấy ra cốc nhỏ, để trong tủ 60°C.

### Cách pha hóa chất

#### Dung dịch Erythrosin

Erythrosin B ( $C_{20}H_6I_4Na_2O_5$ ): 0,1g

Nước cất: 100ml

Khuấy đều ta được dung dịch Erythrosin B( $C_{20}H_{14}Na_2O_5$ ) nồng độ 1‰

**Dung dịch Hematoxylin:** là hóa chất thành phẩm có trên thị trường.

**Dung dịch Hemalun demayer**

Công thức:

- Alunde K( $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ ): 5g
- Hematine( $C_6H_{12}O_6$ ): 300mg
- Acid Acetic( $CH_3COOH$ ): 5ml
- Nước cất: 250ml

♦ **Cách pha:**

Đun sôi nước cho Alunde K. ( $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ ) vào đun tiếp khoảng 1→2 phút cho tan hết, sau đó cho tiếp Hematine ( $C_6H_{12}O_6$ ), đun thêm 1 phút và tắt bếp bắc ra để nguội → cho tiếp Acid Acetic ( $CH_3COOH$ ) vào ta được dung dịch Hemalun demayer.

**Dung dịch  $Na_2S_2O_3$  5%**

- $Na_2S_2O_3$ : 5g
- Nước cất: 100ml

Lắc đều cho tan hết  $Na_2S_2O_3$  sẽ được dung dịch  $Na_2S_2O_3$  5%:

**Dung dịch  $Na_2CO_3$  1%**

- $Na_2CO_3$ : 1g
- Nước cất: 100ml

Trộn dung môi và chất tan lẫn nhau, sau đó lắc đều cho tan hết  $Na_2CO_3$  ta được dung dịch cần pha.

**Dung dịch Lugol**

Công thức:

- KI: 2g
- Iốt tinh thể: 1g
- Nước cất: 100ml

♦ **Cách pha:**

Cho KI hòa tan trong nước trước sau đó cho tiếp Iốt tinh thể vào, khuấy đều cho đến khi tan hết ta được dung dịch Lugol.

### 3. Bệnh phẩm

Là các tiêu bản mảnh sinh thiết đã cắt sẵn, đảm bảo khô: Sau khi mảnh sinh thiết được đúc thành khuôn, tiến hành cắt dán trên lam kính và để khô trong tủ ẩm 37°C trong 3 giờ.

### 4. Phiếu xét nghiệm

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Quy trình xử lý bệnh phẩm sinh thiết

- Cố định mảnh sinh thiết trong dung dịch (DD) Formol 10% trong 24 giờ;
- Chuyển trong hóa chất:
  - + Rửa mẫu trong nước chảy nhẹ trong 1 giờ;
  - + Đẩy nước bằng ngâm trong cồn;
  - Ngâm trong cồn 90°: 30 phút;
  - Ngâm trong cồn tuyệt đối I: 1 giờ;
  - Ngâm trong cồn tuyệt đối II: 1 giờ;
  - Ngâm trong cồn tuyệt đối II: 3 giờ;
- Loại cồn bằng Xylen → lấy mảnh sinh thiết thấm khô bằng giấy thấm
  - Ngâm trong Xylen I: 30 phút;
  - Ngâm trong Xylen II: 1 giờ;
  - Ngâm trong Xylen III: 1 giờ;
- Vùi mẫu trong parapin và đúc khuôn.
- Lấy mẫu từ Xylen III và thấm khô bằng giấy thấm.
- Ngâm trong Parafin nóng chảy trong 12 giờ.
- Đúc mảnh sinh thiết trong khuôn Parafin nóng chảy.
- Bảo quản khuôn mảnh sinh thiết trong ngăn tủ mát (2°C-8°C)

### 2. Nhuộm Giemsa mảnh sinh thiết

- Cắt dán tiêu bản và để khô trong tủ 37°C trong 2 giờ;
- Tẩy Parafin bằng cách chuyển mẫu qua Toluen I,II,III → cồn tuyệt đối I,II và cồn 80°C. Mỗi loại 5 phút;
- Rửa dưới vòi nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Tráng qua cồn tuyệt đối;
- Nhuộm Giemsa 1/10: 15 phút;
- Rửa dưới nước chảy nhẹ;
- Đẩy nước bằng cồn tuyệt đối ngâm trong Toluen;
- Gắn lamén và để khô.

### **3. Nhuộm HE mảnh sinh thiết hạch, lách.**

- Tẩy parafin bằng cách chuyển mẫu qua Toluene I, II, III → cồn 80°, cồn tuyệt đối I, II: Mỗi loại 5 phút;
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Nhuộm trong Hematoxylin: 2 – 5 phút;
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Tẩy qua axit HCL 1%: 4-8 giây (nếu cần);
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Nhuộm trong Erythrosin: 30 - 60 giây;
- Rửa dưới nước chảy nhẹ: 5 phút;
- Đẩy nước bằng cồn tuyệt đối → ngâm tiêu bản trong Toluene;
- Gắn lamên, để khô và nhận định kết quả.

### **4. Nhuộm HE mảnh sinh thiết tử cung**

- Chuyển xylen 1,2,3, cồn 1,2 và cồn 80° mỗi loại 5 phút;
- Rửa dưới dòng nước chảy 10 phút và rửa sạch parafin;
- Nhuộm Lugol :10 phút;
- Rửa nước chảy:10 phút;
- Nhuộm  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ : 5 phút;
- Rửa dưới dòng nước chảy:10 phút;
- Nhúng vào Hemalum: 4 phút;
- Rửa nước chảy:10 phút;
- Tẩy cồn HCL 1 % 8 giây;
- Rửa dưới dòng nước chảy 10 phút (nước có sẵn trong cốc);
- Làm xanh tiêu bản bằng  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  :1 phút;
- Rửa dưới dòng nước chảy:10 phút;
- Nhúng nền bằng Erythrosin: 2– 4 giây;
- Rửa nước chảy 5 phút;
- Gắn lamên: rửa sạch tiêu bản, tráng lại bằng nước cất, tẩy nước bằng cồn tuyệt đối, nhúng qua xylen 1,2,3 (đã để trong tủ ẩm) và gắn lamên.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trên tiêu bản đẹp: thấy rõ các tế bào có đủ nhân, nguyên sinh chất và các hạt của các dòng tế bào. Bên cạnh đó thấy được hình thái và tính chất của tổ chức như lớp vỏ, lớp tủy và các đặc điểm của mỗi phần.



- Việc nhận xét hình thái tế bào và tổ chức học đòi hỏi nhân viên phải có kiến thức về Tế bào - Tổ chức học và giải phẫu bệnh. Vì vậy nhân viên làm kỹ thuật quan tâm nhiều đến việc sau khi nhuộm thì các tế bào và cấu trúc tổ chức có bắt màu tốt hay không cũng như các đặc điểm.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Nhuộm các thì hóa chất không phù hợp
- Hóa chất đã bị thay đổi nồng độ.

# CHỤP ẢNH TRÊN KÍNH HIỂN VI KỸ THUẬT SỐ VÀ GHI ĐĨA

## I. NGUYÊN LÝ

Chụp ảnh tiêu bản bệnh phẩm (máu, dịch hút tủy xương, sinh thiết tủy xương, hạch, các dịch sinh học khác..) và in ra đĩa CD.

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

01 Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân kỹ thuật, bác sĩ chuyên khoa Huyết học – Truyền máu.

### 2. Phương tiện

- Kính hiển vi quang học có cấu hình camera và phần mềm chụp ảnh, xử lý ảnh.
- Máy tính có ổ DVD Write (DVD – RW) hoặc VCD Write
- Đĩa CD theo chỉ định
- Phần mềm ghi đĩa Nero 6.0 hoặc 7.0

### 3. Bệnh phẩm

Tiêu bản bệnh phẩm (máu, dịch hút tủy xương, sinh thiết tủy xương, hạch, các dịch sinh học khác..).

### 4. Phiếu xét nghiệm

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1 Thao tác chụp ảnh

- Bật máy tính và KHV.
- Chọn vi trường tế bào cần chụp ảnh trên KHV.
- Chỉnh nét ảnh bằng xoay nhẹ ốc vi cấp của KHV, quan sát tế bào hay vi trường
- cần chụp ảnh trên màn hình máy vi tính.
- Chọn phần mềm AXIO vision Release 4.6 trên máy tính.
- Chọn Live trên thanh công cụ của cửa sổ AXIO vision.
- Vào Propertise / Adjust Chỉnh mức độ màu: 0,51 Cyan - Red  
0,51 Yellow - Blue  
0,00 Magenta – Green
- Chụp ảnh bằng cách vào Snap
- Chọn Prrocessing ở thanh công cụ chuẩn.

- + Vào Sharpen / Enhance Contour. Chọn Apply/ Cancel.
- + Vào Smooth / Gause/ Chọn Apply /Cancel.
- + Không lưu các ảnh: Snap và IP- Enhance Contour Image.
- + Lưu ảnh cuối cùng IP Gause Image.
- Lưu ảnh bằng cách vào File/Chọn Save as hoặc Save/ Tên BN mã số.

## **2. Thao tác ghi đĩa**

- Cho đĩa vào đầu ghi
- Khởi động phần mềm Nero
- Chọn biểu tượng Data/ Make Data CD()

Tại cửa sổ Disc Content → chọn ⊕ Add sẽ xuất hiện cửa sổ để chọn nơi lưu ảnh. Chọn ảnh bằng chuột trái hoặc Clrt+A → nhấn Add → finish hoặc Close để thoát khỏi cửa sổ chọn ảnh.

- Nhấn Next: Tại vị trí Current reccorde chọn ổ đĩa để ghi (thường là CD-R/RW). Sau đó là chọn chế độ ghi (thường là chọn 24 bit/s...)
- Nhấn biểu tượng và chữ Burn.
- Khi hoàn tất máy sẽ yêu cầu → chọn Ok → khay đĩa đẩy ra và lấy đĩa CD.
- Thoát khỏi chương trình Nero (máy sẽ hỏi có lưu hay không lưu nội dung đã ghi).

## **IV. YÊU CẦU CHẤT LƯỢNG.**

Chụp được đúng tế bào, vi trường... cần chụp, ảnh rõ nét, đẹp.

# CHỤP ẢNH TRÊN KÍNH HIỂN VI KỸ THUẬT SỐ

## I. NGUYÊN LÝ

Chụp ảnh tiêu bản bệnh phẩm (máu, dịch hút tủy xương, sinh thiết tủy xương, hạch, các dịch sinh học khác..).

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

01 Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân kỹ thuật, bác sĩ chuyên khoa Huyết học - Truyền máu.

### 2. Phương tiện

- Kính hiển vi quang học có cấu hình camera và phần mềm chụp ảnh, xử lý ảnh.
- Máy tính, máy in màu.

### 3. Bệnh phẩm

Tiêu bản bệnh phẩm (máu, dịch hút tủy xương, sinh thiết tủy xương, hạch, các dịch sinh học khác..).

### 4. Phiếu xét nghiệm

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Bật máy tính và KHV.
- Chọn vi trường tế bào cần chụp ảnh trên KHV.
- Chỉnh nét ảnh bằng xoay nhẹ ốc vi cấp của KHV, quan sát tế bào hay vi trường cần chụp ảnh trên màn hình máy vi tính.
- Chọn phần mềm AXIO vision Release 4.6 trên máy tính.
- Chọn Live trên thanh công cụ của cửa sổ AXIO vision.
- Vào Propertise / Adjust Chỉnh mức độ màu: 0,51 Cyan \_ Red  
0,51 Yellow \_ Blue  
0,00 Magenta \_ Green
- Chụp ảnh bằng cách vào Snap
- Chọn Prrocessing ở thanh công cụ chuẩn.
- + Vào Sharpen / Enhance Contour. Chọn Apply/ Cancel.
- + Vào Smooth / Gause/ Chọn Apply /Cancel.
- + Không lưu các ảnh: Snap và IP- Enhance Contour Image.
- + Lưu ảnh cuối cùng IP Gause Image.
- Lưu ảnh bằng cách vào File/Chọn Save as hoặc Save/ Tên BN mã số.

#### **IV. YÊU CẦU CHẤT LƯỢNG**

Chụp được đúng tế bào, vi trường... cần chụp, ảnh rõ nét, đẹp.

#### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- 1. Đỗ Trung Phần (2013), “Kỹ thuật xét nghiệm huyết học cơ bản”,** Nhà xuất bản Y học.
- 2. SM Lewis, BJ Bain et al (2006), “*Pratice Hematology*”, 10<sup>th</sup> editon**
- 3 . Wintrobe’s Clinical Hematology 12th Edition (2009)**

## **CHƯƠNG II: ĐÔNG CẦM MÁU (Hemostasis)**

### **THỜI GIAN MÁU CHẢY (Bleeding Time)**

*(phương pháp Ivy)*

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Là thời gian từ lúc tạo vết thương chuẩn ở vùng mặt trước cẳng tay đến khi máu ngừng chảy dưới áp suất 40mmHg trong suốt quá trình làm xét nghiệm; Đây là xét nghiệm được sử dụng để đánh giá giai đoạn cầm máu ban đầu.

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

Tất cả những trường hợp nghi ngờ có bất thường giai đoạn cầm máu ban đầu: các bệnh lý về thành mạch (thiếu vitamin C...) bệnh lý về số lượng, chất lượng tiểu cầu (xuất huyết giảm tiểu cầu, von Willebrand, Glanzmann...).

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

1 kỹ thuật viên xét nghiệm.

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy đo huyết áp;
- Kim chích chuyên dụng;
- Đồng hồ bấm giây;
- Giấy thấm;
- Bông thấm, dung dịch sát trùng (ether, cồn).

##### **3. Người bệnh**

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

##### **4. Hồ sơ bệnh án**

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; 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**

- Người bệnh ở tư thế nằm hoặc ngồi, thoải mái;
- Dùng máy đo huyết áp bơm và giữ ổn định áp lực ở mức 40mmHg;

- Chọn ở mặt trước trong cẳng tay vùng không có lông, không có mạch máu, tiến hành sát trùng nhẹ nhàng bằng cồn hoặc ether;

- Đợi 1- 2 phút cho dung dịch sát trùng bay hơi hết, sử dụng kim đặc chủng tạo 3 vết cắt cách nhau 2cm, có kích thước tương tự, có độ sâu khoảng 3mm. Khởi động đồng hồ bấm giây ngay khi mỗi vết thương được tạo thành;

- Cứ 30 giây 1 lần, dùng giấy thấm, thấm máu chảy ra từ vết cắt cho đến khi máu ngừng chảy; Bấm đồng hồ dừng lại, ghi thời gian máu chảy của từng vết thương.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Ghi kết quả vào giấy xét nghiệm;

- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Kích thước vết chích không đạt tiêu chuẩn: quá nông hoặc quá sâu;

- Động tác thấm máu từ vết chích quá mạnh gây bong nút tiểu cầu vừa mới hình thành.

# **NGHIỆM PHÁP DÂY THẮT (Tournique Test)**

*(phương pháp tăng áp)*

## **I. NGUYÊN LÝ**

Đánh giá sức bền của mao mạch qua các nốt xuất huyết dưới da sau khi tăng áp lực của máu bằng cách tạo ra một sự ứ đọng tĩnh mạch. Đây là một trong những xét nghiệm được sử dụng để đánh giá giai đoạn cầm máu ban đầu.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Tất cả những trường hợp nghi ngờ suy giảm sức bền mao mạch.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

1 kỹ thuật viên xét nghiệm.

### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy đo huyết áp;
- Đồng hồ.

### **3. Người bệnh**

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

### **4. Hồ sơ bệnh án**

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; 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**

- Kiểm tra nốt xuất huyết trên tay người bệnh (Nếu có, cần ghi rõ để phân biệt với nốt xuất huyết mới xuất hiện sau khi tiến hành kỹ thuật);
- Đo huyết áp người bệnh;
- Duy trì áp lực bằng máy đo huyết áp ở trị số trung bình giữa huyết áp tối đa và tối thiểu trong 10 phút;
- Tháo nhanh máy đo huyết áp, giờ cao tay người bệnh để máu lưu thông bình thường.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Đọc kết quả bằng cách đếm các nốt xuất huyết mới ở vùng phía dưới dải quấn đo huyết áp;



- Ghi kết quả: bình thường không có nốt xuất huyết mới. Khi có >10 nốt xuất huyết mới trên diện tích 10cm<sup>2</sup> dấu hiệu dây thắt được gọi là dương tính và tùy theo số nốt xuất huyết xuất hiện mà kết quả được biểu thị (+), (++), (+++);
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Nhầm với nốt xuất huyết cũ, do không kiểm tra hoặc kiểm tra không kỹ;
- Tạo áp lực quá cao hoặc quá thấp;
- Không đảm bảo thời gian tăng áp lực.

## **PHÁT HIỆN KHÁNG ĐÔNG ĐƯỜNG NGOẠI SINH (Prothrombin time 1:1 mix)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Thời gian đông của xét nghiệm PT (prothrombin time) đánh giá đường ngoại sinh kéo dài do 2 nhóm nguyên nhân chính: thiếu hụt hoặc có chất ức chế một hoặc nhiều yếu tố đông máu tham gia con đường đông máu này. Tiến hành xét nghiệm PT với mẫu trộn huyết tương người bệnh với huyết tương bình thường theo tỷ lệ 1: 1 (PT 1:1 mix test) để phân biệt 2 nhóm nguyên nhân này: PT của mẫu trộn sẽ điều chỉnh về bình thường nếu thiếu hụt yếu tố đông máu, PT của mẫu trộn không điều chỉnh về bình thường trong trường hợp có chất ức chế.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Tất cả những trường hợp kết quả xét nghiệm đánh giá đường đông máu ngoại sinh kéo dài bất thường.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên xét nghiệm; 01 bác sĩ xét nghiệm Huyết học.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Tủ lạnh;
- Máy ly tâm;
- Bình cách thủy 37°C/ máy đông máu bán tự động/ máy đông máu tự động;
- Đồng hồ bấm giây;
- Bơm tiêm nhựa lấy máu;
- Bông cotton sát trùng, dây garo;
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75 x 9,5mm;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Pipette 100μl;
- Đồng hồ bấm giây;
- Nước cất;
- Thromboplastin canxi;
- Huyết tương chứng.

### **3. Người bệnh**

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

### **4. Hồ sơ bệnh án**

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

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Gáo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch của người bệnh và 2ml máu tĩnh mạch của chứng bình thường (nếu không có mẫu chứng thương mại);
- Trộn đều máu với chất chống đông citrate natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu;
- Ly tâm mạnh để thu huyết tương nghèo tiểu cầu bệnh và chứng;
- Tiến hành xét nghiệm PT đồng thời với 3 mẫu huyết tương trong cùng điều kiện:
  - + Mẫu huyết tương chứng;
  - + Mẫu huyết tương bệnh;
  - + Mẫu huyết tương hỗn hợp chứng và bệnh theo tỷ lệ 1:1.
- Ghi thời gian đông của cả 3 mẫu.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- + PT của hỗn hợp bệnh và chứng điều chỉnh về bình thường: kháng đông ngoại sinh âm tính;
- + PT của hỗn hợp bệnh và chứng không điều chỉnh về bình thường: kháng đông ngoại sinh dương tính;
- Ghi kết quả kháng đông ngoại sinh dương tính hay âm tính vào giấy xét nghiệm;
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm, kỹ thuật viên tiến hành và bác sĩ nhận định kết quả xét nghiệm ký tên.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Mẫu huyết tương chứng không đảm bảo chất lượng;
- Mẫu huyết tương hỗn hợp bệnh và chứng không đảm bảo tỷ lệ.
- Các mẫu kiểm tra: huyết tương bệnh, chứng và huyết tương hỗn hợp bệnh và chứng không được tiến hành xét nghiệm PT cùng thời điểm, cùng hóa chất...

# **ĐỊNH LƯỢNG FIBRINOGEN BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÁN TIẾP (PT-BASED ASSAYS) BẰNG MÁY BÁN TỰ ĐỘNG/TỰ ĐỘNG**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Tiến hành xét nghiệm PT mẫu máu cần kiểm tra, nồng độ fibrinogen sẽ được suy ra từ mức độ thay đổi mật độ quang so với đường cong chuẩn; Đường cong chuẩn được thành lập dựa vào mức độ thay đổi mật độ quang học khi tiến hành xét nghiệm PT ở các nồng độ pha loãng khác nhau của mẫu huyết tương chuẩn đã biết trước nồng độ fibrinogen.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Tất cả những trường hợp định lượng fibrinogen nhằm mục đích sàng lọc bất thường đông cầm máu.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên xét nghiệm.

### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Tủ lạnh;
- Máy ly tâm;
- Máy đông máu bán tự động/tự động;
- Pipette 100 $\mu$ l, 1000  $\mu$ l;
- Đồng hồ bấm giây;
- Bơm tiêm nhựa lấy máu;
- Bông cotton sát trùng, dây garo;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Thromboplastin canxi;
- Nước cất.

### **3. Người bệnh**

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

### **4. Hồ sơ bệnh án**

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; 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**

- Bật máy đông máu, chờ đủ nhiệt độ;
- Garo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch của người bệnh;
- Trộn máu và chất chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu;
- Ly tâm mạnh thu huyết tương nghèo tiểu cầu;
- Tách lấy huyết tương cho vào cup đựng mẫu hoặc đặt trực tiếp ống máu đã ly tâm vào khay mẫu của máy (tùy theo loại máy);
- Chọn chương trình PT - Fib. trên máy đông máu;
- Chuẩn bị thromboplastin canxi theo hướng dẫn của nhà sản xuất;
- Đặt hóa chất đã chuẩn bị vào đúng vị trí ở khay hóa chất của máy;
- Tiến hành kỹ thuật theo đúng các bước được hướng dẫn trên màn hình của từng loại máy.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Ghi kết quả vào giấy xét nghiệm.
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Mẫu máu bị đông, vỡ hồng cầu;
- Thromboplastin canxi không đảm bảo chất lượng.

## **ĐỊNH LƯỢNG YẾU TỐ XII (FACTOR XII ASSAY)**

(phương pháp 1 thì)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Thiếu hụt yếu tố XII sẽ làm xét nghiệm APTT bị kéo dài, APTT sẽ được điều chỉnh khi bổ sung huyết tương có yếu tố XII và mức độ cần bổ sung phụ thuộc nồng độ yếu tố XII có trong huyết tương cần kiểm tra. Dựa vào đó, người ta tiến hành APTT của mẫu huyết tương cần kiểm tra sau khi cho thêm huyết tương có đầy đủ các yếu tố đông máu tham gia đường đông máu nội sinh trừ yếu tố XII. Nồng độ yếu tố XII sẽ được tính dựa vào đồ thị chuẩn được thành lập với các nồng độ pha loãng khác nhau của huyết tương chứng.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Tất cả những trường hợp nghi ngờ thiếu hụt yếu tố XII.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

01 kỹ thuật viên xét nghiệm; 01 bác sĩ xét nghiệm Huyết học.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Tủ lạnh;
- Máy ly tâm;
- Bình cách thủy 37°C/ máy đông máu bán tự động/ máy đông máu tự động;
- Đồng hồ bấm giây;
- Pipette: 50 $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 1.000  $\mu$ l;
- Bơm kim tiêm nhựa lấy máu;
- Bông, cồn sát trùng, dây garo;
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75 x 9,5mm;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Nước cất;
- Huyết tương chứng đã biết nồng độ yếu tố XII;
- Huyết tương không có yếu tố XII;
- Canxi clorua M/40;
- Cephalin kaolin.

### 3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

### 4. Hồ sơ bệnh án

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán, điều trị.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Gáo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch của người bệnh và 2ml máu tĩnh mạch của chứng bình thường (nếu không có mẫu chứng thương mại);

- Trộn đều máu với chất chống đông citrate natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu;

- Ly tâm mạnh để thu huyết tương nghèo tiểu cầu bệnh và chứng.

+ *Trường hợp tiến hành bằng tay:*

\* Pha loãng huyết tương chứng ít nhất ở 3 nồng độ: 1/10, 1/20, 1/40;

\* Pha loãng huyết tương bệnh 1/10;

\* *Xây dựng đồ thị chuẩn:* chuẩn bị 3 ống nghiệm tan máu:

(1) Mỗi ống cho vào 100  $\mu$ l huyết tương chứng ở mỗi nồng độ đã pha loãng, 100  $\mu$ l huyết tương không có yếu tố XII, 100  $\mu$ l hỗn dịch cephalin-kaolin;

(2) Ủ ở bình cách thuỷ 37°C trong 2 phút;

(3) Cho thêm 100  $\mu$ l  $\text{CaCl}_2$  M/40; Bấm đồng hồ, theo dõi thời gian đông.

Dựa vào thời gian đông ở các độ pha loãng, ta dựng một đồ thị trong đó trục tung là thời gian đông của các độ pha loãng, trục hoành là hoạt tính của yếu tố cần định lượng. Đồ thị sẽ là một đường thẳng.

\* *Xét nghiệm mẫu kiểm tra:* Trong 1 ống nghiệm tan máu chuẩn, cho vào:

(1) 100  $\mu$ l huyết tương bệnh pha loãng 1/10 và 100  $\mu$ l huyết tương không có yếu tố XII, 100  $\mu$ l hỗn dịch cephalin-kaolin;

(2) Ủ ở bình cách thuỷ 37°C trong 2 phút;

(3) Cho thêm 100  $\mu$ l  $\text{CaCl}_2$  M/40; Bấm đồng hồ, theo dõi thời gian đông.

Từ thời gian đông của mẫu huyết tương cần kiểm tra, qua đồ thị chuẩn, sẽ tính được nồng độ yếu tố XII.

+ *Trường hợp tiến hành trên máy đông máu tự động:*

- Chọn chương trình tạo đồ thị chuẩn: máy sẽ tự động pha loãng và cho ra kết quả ; Dựa vào chỉ số r để quyết định chấp nhận đồ thị này hay không.

- Tiến hành định lượng yếu tố XII của mẫu kiểm tra: chọn chương trình factor XII assay và tiến hành các bước theo hướng dẫn trên màn hình tùy từng loại máy.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Dựa vào đồ thị chuẩn để tính nồng độ yếu tố XII;

- Kết quả: ghi % hoạt tính yếu tố XII vào giấy xét nghiệm;

- Điền đầy đủ ngày, tháng năm, kỹ thuật viên tiến hành và bác sĩ nhận định kết quả xét nghiệm ký tên.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Mẫu máu bị đông;

- Chất lượng huyết tương không có yếu tố XII không đạt chuẩn;

- Đồ thị chuẩn không tốt.



# NGHIỆM PHÁP SINH THROMBOPLASTIN

(Thromboplastin Generation Test: TGT)

## I. NGUYÊN LÝ

Sử dụng huyết tương đã được hấp phụ  $\text{Al}(\text{OH})_3$  cung cấp các yếu tố V, VIII và huyết thanh cung cấp các yếu tố IX, X, XI, XII cùng với sự có mặt của cephalin (yếu tố 3 tiểu cầu) để tiến hành đánh giá khả năng tạo thromboplastin nội sinh, qua đó phân biệt sự bất thường con đường đông máu nội sinh do thiếu hụt nhóm yếu tố V, VIII hay nhóm yếu tố IX, X, nhóm yếu tố XI, XII.

## II. CHỈ ĐỊNH

Tất cả những trường hợp bất thường đường đông máu nội sinh.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện:

01 kỹ thuật viên xét nghiệm; 01 bác sĩ xét nghiệm Huyết học.

### 2. Phương tiện, hóa chất

- Tủ lạnh;
- Máy ly tâm;
- Bình cách thủy  $37^\circ\text{C}$ ;
- Đồng hồ bấm giây;
- Pipette: 50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ , 1.000  $\mu\text{l}$ ;
- Bơm kim tiêm nhựa lấy máu;
- Bông, cotton sate trùng, dây garo;
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75 x 9,5mm;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Nước muối sinh lý 0,9%;
- Đệm glyoxalin;
- Huyền dịch nhôm :  $\text{Al}(\text{OH})_3$ ;
- Canxi M/40;
- Cephalin kaolin.

### 3. Người bệnh

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

### 4. Hồ sơ bệnh án

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán, điều trị.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Garo, sát trùng, lấy khoảng 5ml máu người bệnh, trong đó 2ml trộn đều máu với chất chống đông citrate natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu, ly tâm mạnh để thu huyết tương nghèo tiểu cầu; 3ml còn lại cho đều vào 2 ống thủy tinh, đặt ở bình cách thủy 37°C để thu huyết thanh;

- Garo, sát trùng, lấy khoảng 5ml máu chứng (người bình thường), trong đó 2ml trộn đều máu với chất chống đông citrate natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu, 3ml còn lại cho đều vào 2 ống thủy tinh, đặt ở bình cách thủy 37°C để thu huyết thanh chứng;

- Sau khi ly tâm mạnh để thu huyết tương chứng nghèo tiểu cầu, tiến hành hút bởi huyền dịch nhôm;

- Mẫu huyết tương chứng sau khi hút bởi huyền dịch nhôm, được pha loãng ở nồng độ 1/5 bằng nước muối sinh lý 0,9%;

- Mẫu huyết thanh chứng được pha loãng ở nồng độ 1/10 bằng đệm glyoxaline;

- Chuẩn bị 1 dãy các ống nghiệm tan máu, cho sẵn 0,2 ml canxi clorua M/40, đặt ở bình cách thủy 37°C;

- Trong 1 ống nghiệm tan máu khác, cho vào:

(1) 0,4 ml huyết tương đã hấp phụ nhôm, 0,4 ml huyết thanh, 0,4 ml cephalin;

(2) Đặt ở bình cách thủy 37°C trong 30 giây;

(3) Cho thêm 0,4ml canxi clorua M/40, khởi động đồng hồ ngay;

(4) Ở thời điểm 50 giây, hút 0,1ml ở ống hỗn dịch trên, cho vào ống đã có sẵn 0,2ml canxi clorua M/40 đang đặt ở bình cách thủy 37°C;

(5) Ở thời điểm 60 giây, cho thêm 0,2ml huyết tương cơ chất vào ống vừa chuẩn bị ở bước 4, khởi động đồng hồ bấm giây, ghi thời gian đông.

Tiếp tục lặp lại bước 4 và 5 ở những khoảng thời gian nhất định.

*Kỹ thuật này được thực hiện 4 lần với các thành phần sau:*

*Huyết tương*

*Huyết thanh*

1. Bình thường

+

Bình thường

- |                |   |             |
|----------------|---|-------------|
| 2. Bình thường | + | Bệnh        |
| 3. Bệnh        | + | Bình thường |
| 4. Bệnh        | + | Bệnh        |

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Kết quả: ghi rõ bất thường đông máu nội sinh do thiếu hụt nhóm yếu tố nào: V và VIII hay IX và X hoặc XI và XII tùy theo kết quả, cụ thể:

| <i>Huyết tương hấp phụ</i> | <i>Huyết thanh</i> | <i>Kết quả</i> | <i>Nhận định</i>             |
|----------------------------|--------------------|----------------|------------------------------|
| Bình thường                | Bệnh               | Kéo dài        | Thiếu hụt yếu tố IX hoặc X   |
| Bệnh                       | Bình thường        | Kéo dài        | Thiếu hụt yếu tố V hoặc VIII |
| Bệnh                       | Bệnh               | Kéo dài        | Thiếu hụt yếu tố XI hoặc XII |

- Điền đầy đủ ngày, tháng năm, kỹ thuật viên tiến hành và bác sĩ nhận định kết quả xét nghiệm ký tên.

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Tách huyết thanh chứng và bệnh khi ống máu đông chưa đủ thời gian để 4 giờ ở bình cách thủy 37°C;

- Huyết tương cơ chất không đảm bảo chất lượng.

## **ĐỊNH LƯỢNG ỨC CHẾ YẾU TỐ IX (FACTOR IX INHIBITOR ASSAY)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Bằng cách trộn huyết tương người bệnh với chế phẩm yếu tố IX cô đặc đã biết trước nồng độ yếu tố IX, sau đó định lượng yếu tố IX còn lại trong chế phẩm cô đặc, sẽ biết được nồng độ ức chế có trong huyết tương cần đánh giá. Định lượng ức chế IX rất hữu ích trong điều trị cũng như theo dõi người bệnh có chất ức chế này.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Tất cả những trường hợp kết quả xét nghiệm định tính ức chế yếu tố IX cho kết quả dương tính.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên xét nghiệm; 01 bác sĩ xét nghiệm Huyết học.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Tủ lạnh;
- Máy ly tâm;
- Bình cách thủy 37°C/ máy đông máu bán tự động/ máy đông máu bán tự động tự động;
- Đồng hồ bấm giây;
- Giấy log kép để tính nồng độ yếu tố IX (trường hợp sử dụng phương pháp thủ công);
- Bơm tiêm nhựa lấy máu;
- Bông cotton sát trùng, dây garo;
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75 x 9,5mm;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Pipette 100µl, 200µl, 1.000µl;
- Đồng hồ bấm giây;
- Nước cất;
- CaCl<sub>2</sub> M/40;
- Cephalin - kaolin;

- Chế phẩm yếu tố IX cô đặc;
- Huyết tương không có yếu tố IX.

### **3. Người bệnh**

Nhìn ăn sáng, trừ trường hợp cấp cứu.

### **4. Hồ sơ bệnh án**

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; Giấy chỉ định xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin về người bệnh: họ tên, tuổi, giường bệnh, khoa phòng, chẩn đoán, điều trị...

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Gáo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch của bệnh và 2ml máu tĩnh mạch của chứng bình thường (nếu không có mẫu chứng thương mại);
- Trộn đều máu với chất chống đông citrate natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu;
- Ly tâm mạnh để thu huyết tương nghèo tiểu cầu chứng và bệnh;
- Chuẩn bị 2 ống nghiệm: 1 ống cho 0,4ml huyết tương bệnh và ống còn lại: 0,4ml huyết tương chứng;
- Cho thêm vào mỗi ống 0,1 ml chế phẩm IX cô đặc, trộn đều;
- Tiến hành kỹ thuật định lượng yếu tố IX cho 2 ống ở trên;
- Tính nồng độ yếu tố IX trong hỗn dịch huyết tương bệnh và so sánh với mẫu huyết tương chứng.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Ghi kết quả: Ghi nồng độ ức chế IX vào giấy xét nghiệm;
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm, kỹ thuật viên tiến hành và bác sĩ nhận định kết quả xét nghiệm ký tên.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Chất lượng chế phẩm yếu tố IX cô đặc không đảm bảo;
- Đồ thị chuẩn không tốt;
- Thời gian từ khi pha loãng huyết tương đến khi tiến hành kỹ thuật quá lâu.

## **ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH PLASMINOGEN (PLASMINOGEN ACTIVITY ASSAY)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Thiếu hụt plasminogen thường gây nên tình trạng huyết khối; Tiến hành định lượng hoạt tính plasminogen bằng phương pháp sử dụng streptokinase để hoạt hóa plasminogen có mặt trong mẫu huyết tương cần kiểm tra, sau đó phức hợp plasminogen - streptokinase được phát hiện bằng cơ chất tạo màu.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Những trường hợp nghi ngờ thiếu hụt plasminogen bẩm sinh hoặc mắc phải: huyết khối tĩnh mạch, điều trị thuốc tiêu cục đông, DIC...

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên xét nghiệm; 01 bác sĩ xét nghiệm Huyết học.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy đông máu có kênh so màu;
- Bơm tiêm nhựa lấy máu;
- Bông cotton sát trùng, dây garo;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Pipette 100 $\mu$ l, 200 $\mu$ l, 1.000 $\mu$ l;
- Bộ kit định lượng hoạt tính plasminogen bao gồm: cơ chất tạo màu, streptokinase, đệm.

#### **3. Người bệnh**

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

#### **4. Hồ sơ bệnh án**

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; 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 02 ml máu tĩnh mạch, trộn đều với chất chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông cho 9 thể tích máu;
- Ly tâm mạnh, thu huyết tương nghèo tiểu cầu;

- Bật máy đông máu, chờ đủ nhiệt độ;
- Chuẩn bị bộ kit định lượng hoạt tính plasminogen theo chỉ dẫn của nhà sản xuất;
- Tiến hành kỹ thuật theo các bước được hướng dẫn cụ thể tùy theo từng loại máy đông máu mà phòng xét nghiệm hiện có.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Ghi kết quả nồng độ hoạt tính plasminogen của mẫu kiểm tra và trị số bình thường vào giấy xét nghiệm;
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm, kỹ thuật viên tiến hành và bác sĩ nhận định kết quả xét nghiệm ký tên.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Mẫu máu bị đông, vỡ hồng cầu;
- Garô tĩnh mạch quá lâu trước khi lấy máu xét nghiệm.

## **ĐO ĐỘ QUÁNH MÁU/ HUYẾT TƯƠNG (WHOLE BLOOD/PLASMA VISCOSITY TEST)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Đo độ quánh của máu toàn phần hoặc huyết tương bằng kỹ thuật FOR (Free Oscillation Rheometry), dựa vào sự thay đổi tần số và biên độ dao động tự do và so sánh với đồ thị chuẩn để tính ra độ quánh của mẫu cần đo.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Tất cả những trường hợp nghi ngờ tăng độ quánh máu/huyết tương: đa hồng cầu, đa u tủy xương...

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

1 kỹ thuật viên xét nghiệm.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Garo, bông cotton sát trùng, bơm kim tiêm lấy máu;
- Ống nhựa có chất chống đông EDTA;
- Máy đo độ quánh;
- Pipet man loại 1ml, 0,5ml, 0,1ml;
- Máy ly tâm.

#### **3. Người bệnh**

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

#### **4. Hồ sơ bệnh án**

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; 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**

- Garo, sát trùng và lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch;
- Trộn máu với chất chống đông EDTA;
- Ly tâm 3.000v/phút trong 20 phút thu huyết tương nghèo tiểu cầu nếu đo độ quánh huyết tương;
- Bật máy đo độ quánh;



- Hút 1ml máu toàn phần nếu đo độ quánh máu, 0,6ml huyết tương nghèo tiểu cầu nếu đo độ quánh huyết tương cho vào công đo chuyên dụng, đặt công đo đã chứa mẫu đo vào buồng ủ;

- Chọn chương trình đo thích hợp với từng loại mẫu đo;

- Vào chương trình đo độ quánh thích hợp.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Ghi kết quả độ quánh đo được của mẫu cần kiểm tra và trị số bình thường vào giấy xét nghiệm;

- Điền đầy đủ ngày, tháng năm và kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm ký tên.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Mẫu máu bị đông;

- Chọn điều kiện nhiệt độ để đo độ quánh không đúng.

## **PHÁT HIỆN KHÁNG ĐÔNG ĐƯỜNG CHUNG (THROMBIN TIME 1:1 MIX)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Thời gian đông của xét nghiệm thời gian thrombin (TT) kéo dài do 2 nhóm nguyên nhân chính: thiếu hụt yếu tố đông máu hoặc do có chất ức chế con đường đông máu này. Tiến hành xét nghiệm TT với mẫu trộn huyết tương người bệnh với huyết tương bình thường theo tỷ lệ 1: 1 (TT 1:1 mix test) để phân biệt 2 nhóm nguyên nhân này: TT của mẫu trộn sẽ điều chỉnh về bình thường nếu thiếu hụt yếu tố đông máu, TT của mẫu trộn không điều chỉnh về bình thường trong trường hợp có chất ức chế.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Tất cả những trường hợp kết quả xét nghiệm đánh giá đường đông máu chung (Thrombin time) kéo dài.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên; 01 bác sĩ xét nghiệm Huyết học.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Tủ lạnh;
- Máy ly tâm;
- Bình cách thủy 37°C/ máy đông máu bán tự động/ máy đông máu tự động;
- Đồng hồ bấm giây;
- Bơm tiêm nhựa lấy máu;
- Bông cotton sát trùng, dây garo;
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75 x 9,5mm;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Pipette 100µl, 1.000 µl;
- Thrombin pha loãng nồng độ thích hợp để tiến hành kỹ thuật thời gian thrombin.

#### **3. Người bệnh**

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

#### **4. Hồ sơ bệnh án**

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; 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**

- Gáo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch người bệnh và 2ml máu tĩnh mạch chứng bình thường (nếu không có mẫu chứng thương mại);
- Trộn đều máu với chất chống đông citrate natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu;
- Ly tâm mạnh để thu huyết tương nghèo tiểu cầu chứng và bệnh;
- Trộn huyết tương chứng và bệnh theo tỷ lệ 1:1;
- Tiến hành xét nghiệm TT đồng thời với 3 mẫu huyết tương trong cùng điều kiện:
  - + Mẫu huyết tương chứng;
  - + Mẫu huyết tương bệnh;
  - + Mẫu huyết tương hỗn hợp chứng và bệnh theo tỷ lệ 1:1.

#### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- + TT hỗn hợp bệnh và chứng điều chỉnh về bình thường: kháng đông đường chung âm tính;
- + TT hỗn hợp bệnh và chứng không điều chỉnh: kháng đông đường chung dương tính;
- Ghi kết quả kháng đông đường chung dương tính hay âm tính vào giấy xét nghiệm;
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm, kỹ thuật viên tiến hành và bác sĩ nhận định kết quả xét nghiệm ký tên.

#### **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Mẫu huyết tương chứng không đảm bảo chất lượng;
- Mẫu huyết tương hỗn hợp bệnh và chứng không đảm bảo tỷ lệ.
- Các mẫu kiểm tra: huyết tương bệnh, chứng và huyết tương hỗn hợp bệnh và chứng không được tiến hành xét nghiệm TT cùng thời điểm, cùng lô hóa chất...

# **XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN GIẢM TIỂU CẦU DO HEPARIN**

(Heparin Induced Thrombocytopenia: HIT)

## **I. NGUYÊN LÝ**

Khi người bệnh được điều trị heparin, thuốc này có thể kết hợp với yếu tố 4 tiểu cầu tạo phức hợp có tính kháng nguyên và trong một số trường hợp, cơ thể người bệnh tạo kháng thể chống lại kháng nguyên này, gây nên tình trạng giảm tiểu cầu ở người bệnh và được gọi là tình trạng giảm tiểu cầu do heparin. Sử dụng kỹ thuật ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) hoặc miễn dịch hóa phát quang (chemiluminescent testing) để phát hiện kháng thể kháng tiểu cầu do heparin.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Tất cả những trường hợp nghi ngờ có tình trạng giảm tiểu cầu do heparin.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên; 01 bác sĩ xét nghiệm Huyết học.

### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy Acustar hoặc hệ thống ELISA;
- Tủ lạnh;
- Máy ly tâm;
- Bơm tiêm nhựa lấy máu;
- Bông cotton sát trùng, dây garo;
- Ống nghiệm tan máu kích thước 75 x 9,5mm;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Pipette 100µl, 1.000 µl;
- Hóa chất sinh phẩm: HemosIL AcuStar HIT-IgG(PF4-H) và HemosIL

AcuStar HIT-Ab(PF4-H) hoặc HIA IgG và HIA IgGAM ELISA.

### **3. Người bệnh**

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

### **4. Hồ sơ bệnh án**

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; 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**

- Garo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch người bệnh;
- Trộn đều máu với chất chống đông citrate natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu;
- Ly tâm mạnh để thu huyết tương nghèo tiểu cầu;
- Bật máy, chờ đủ nhiệt độ;
- Đặt mẫu huyết tương cần kiểm tra vào vị trí khay mẫu;
- Đặt hóa chất sinh phẩm vào đúng vị trí trên máy;
- Tiến hành các thao tác chạy máy theo các bước theo quy định.

#### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Đánh giá kết quả dựa vào giá trị cut off;
- Ghi kết quả vào giấy xét nghiệm;
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm, kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm và bác sĩ nhận định kết quả xét nghiệm ký tên.

# **ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG NGUYÊN CHẤT ỨC CHẾ HOẠT HÓA PLASMINOGEN 1**

(Plasminogen Activator Inhibitor type 1 Antigen: PAI -1 Antigen)

## **I. NGUYÊN LÝ**

Các chất hoạt hóa plasminogen đóng vai trò trung tâm trong điều hòa hệ thống tiêu sợi huyết, được kiểm soát bởi các chất ức chế hoạt hóa plasminogen (plasminogen Activator Inhibitor: PAI). PAI -1 là chất ức chế sinh lý chính của t-PA (tissue type plasminogen activator) có trong huyết tương. Kháng nguyên PAI -1 được định lượng bằng phương pháp ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay).

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Tất cả những trường hợp nghi ngờ tăng hoặc giảm PAI - 1.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 kỹ thuật viên; 01 bác sĩ xét nghiệm Huyết học.

### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Tủ lạnh đựng hóa chất sinh phẩm;
- Máy ly tâm;
- Hệ thống ELISA;
- Bơm tiêm nhựa lấy máu;
- Bông cotton sát trùng, dây garo;
- Ống nghiệm plastic có chống đông citrat natri 3,2% hoặc 3,8%;
- Pipette 100µl, 1.000 µl;
- Sinh phẩm định lượng kháng nguyên PAI - 1 thương mại;

### **3. Người bệnh**

Không cần chuẩn bị gì đặc biệt.

### **4. Hồ sơ bệnh án**

Chỉ định xét nghiệm được ghi rõ trong bệnh án; 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**

- Gáo, sát trùng, lấy khoảng 2ml máu tĩnh mạch;
- Trộn đều máu với chất chống đông citrate natri 3,2% hoặc 3,8% theo tỷ lệ: 1 thể tích chống đông trộn với 9 thể tích máu;
- Ly tâm mạnh để thu huyết tương nghèo tiểu cầu;
- Chuẩn bị đầy đủ hóa chất sinh phẩm thương mại định lượng kháng nguyên PAI -1;
- Tiến hành định lượng kháng nguyên PAI - 1 theo các bước được hướng dẫn.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Ghi kết quả nồng độ kháng nguyên PAI - 1 của mẫu kiểm tra và giá trị bình thường (khoảng 4-40 ng/mL) vào giấy xét nghiệm;
- Điền đầy đủ ngày, tháng năm, kỹ thuật viên tiến hành xét nghiệm và bác sĩ nhận định kết quả xét nghiệm ký tên.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Trần Văn Bé (1989), “Kỹ thuật đông máu”, Thực hành Huyết học và Truyền máu, Nhà xuất bản Y học năm 2013, tr. 225-350.
2. Mike Laffan, Richard Manning (2010), “Investigation of Hemostasis”, Practical Haematology, Churchill Livingstone, Tenth edition, pp379-440.
3. Nguyễn Ngọc Minh (1997), Cầm máu và đông máu: Kỹ thuật và ứng dụng trong lâm sàng, Nhà xuất bản Y học Hà nội năm 1997.
4. Đỗ Trung Phần và cộng sự (2013), Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu ứng dụng trong lâm sàng (tái bản lần thứ 2), Nhà xuất bản Y học năm 2013.
5. Bạch Quốc Tuyên và cs (1978), “Các xét nghiệm đông máu”, Kỹ thuật xét nghiệm Huyết học và Truyền máu, ĐHY Hà nội, tr.142-179.
6. Wayne L.Chandler, Albert R.Laspada (2005), Handbook of diagnostic Hemostasis and Thrombosis tests, University of Washington, Third edition 2005.

# **CHƯƠNG III: MIỄN DỊCH-DI TRUYỀN-SINH HỌC PHÂN TỬ (DÀNH CHO CHUYÊN NGÀNH HUYẾT HỌC-TRUYỀN MÁU)**

## **Immunology genetics -Molecular biology for Hematology**

### **ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG nDNA BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH GẮN MEN (ELISA)**

*(Anti –nDNA quantitative test by ELISA)*

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Kháng nguyên nDNA được gắn sẵn trong các giếng nhựa sẽ kết hợp với kháng thể đặc hiệu anti – nDNA IgG-IgM (nếu có) trong huyết thanh người bệnh khi ủ tạo nên phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể đặc hiệu. Sau khi rửa bỏ huyết thanh thừa, cho chất cộng hợp (còn gọi là conjugate) có bản chất là hỗn hợp anti IgG và anti IgM người gắn enzyme peroxidase. Khi đó cộng hợp sẽ gắn đặc hiệu vào phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể (nếu có). Sau khi rửa bỏ lượng cộng hợp dư thừa không gắn với phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể, cho tiếp vào giếng phản ứng một lượng xác định cơ chất TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Enzyme peroxidase trong giếng phản ứng (nếu có) sẽ xúc tác tạo phản ứng giữa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và TMB tạo màu xanh lá cây. Phản ứng được ngừng lại bằng dung dịch a-xít H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> loãng, lúc này màu xanh của dung dịch chuyển thành màu vàng chanh, đậm độ màu tương quan thuận với nồng độ kháng thể IgG và IgM có trong huyết thanh. Xác định mức độ màu bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 450 nm hoặc bước sóng kép 450 nm/620 nm.

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp nghi đến bệnh tự miễn.

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên và cử nhân đã được đào tạo thực hiện kỹ thuật;
- Bác sĩ xét nghiệm: đọc kết quả, đánh giá, kiểm tra chất lượng.

##### **2. Phương tiện - Hóa chất**

###### **2.1. Phương tiện**

- Máy ly tâm ống máu.



- Pipet và đầu pipet loại 25 $\mu$ l và 1000 $\mu$ l.
- Dàn máy ELISA (tự động hoặc bán tự động).
- Găng tay.

## **2.2. Hóa chất**

Kít định tính nDNA IgG/IgM gồm các thành phần sau:

- Dung dịch pha loãng mẫu;
- Dung dịch rửa;
- Chứng âm (negative control);
- Chứng dương (positive control);
- Chứng ngưỡng (cut-off calibrator);
- Các nồng độ kháng thể chuẩn (calibrator): thường có 6 nồng độ chuẩn, giá trị cụ thể của các ống nồng độ chuẩn tùy thuộc vào hãng sản xuất;
- Dung dịch cộng hợp (conjugate): 1 lọ cộng hợp gồm cả IgG và IgM dùng để phát hiện kháng thể IgG và IgM;
- Cơ chất tạo màu (TMB substrate);
- Dung dịch dừng phản ứng (stop solution);
- Các giếng phản ứng trên phiến nhựa ELISA;
- Nước cất, hoá chất khử trùng Natri hypochlorite.

## **3. Mẫu bệnh phẩm**

- Mẫu dùng là huyết thanh;
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng;
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm;
- Mẫu huyết thanh bảo quản ở nhiệt độ 2°C đến 8°C có thể dùng làm xét nghiệm trong vòng 7 ngày. Nếu muốn để lâu hơn mới xét nghiệm cần phải bảo quản ở tủ lạnh sâu ( $\leq -20^{\circ}\text{C}$ ). Tuy nhiên với mẫu bảo quản lạnh sâu cần tránh đông-tan nhiều lần.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. Pha loãng mẫu 100 lần bằng dung dịch pha loãng mẫu (cung cấp theo kít).
2. Nhỏ 100 $\mu$ l các nồng độ chuẩn (calibrator), mẫu chứng âm, chứng dương, các mẫu thử vào các giếng trên phiến theo sơ đồ định sẵn.
3. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng.

4. Rửa 3 lần bằng dung dịch rửa, 300 $\mu$ l /giếng/lần.
5. Nhỏ 100 $\mu$ l cộng hợp (conjugate) vào các giếng.
6. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng.
7. Rửa 3 lần bằng dung dịch rửa, 300 $\mu$ l /giếng/lần.
8. Nhỏ 100 $\mu$ l cơ chất tạo màu (TMB substrate) vào mỗi giếng.
9. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
10. Nhỏ 100 $\mu$ l dung dịch dừng phản ứng (stop solution) vào mỗi giếng theo đúng trình tự nhỏ TMB.
11. Ủ tối thiểu 5 phút. Gõ nhẹ vào thành giếng trong 5 giây để trộn đều.
12. Đọc phiên ở bước sóng 450/620 nm (tốt hơn thì dùng bước sóng kép 450/ 620 nm) trong vòng 30 phút sau khi ủ dung dịch ngừng phản ứng.
13. Phân tích kết quả.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Căn cứ vào nồng độ chuẩn ghi trên các ống calibrator và mật độ quang đo được (chỉ số OD), nhập số liệu vào chương trình Excel để tính nồng độ kháng thể kháng nDNA (IgG và IgM) trong các mẫu thử.

- Giá trị biện luận: Tốt nhất phải căn cứ vào các hướng dẫn biện luận và đơn vị tính đã được chuẩn hóa chất lượng của nhà sản xuất kit. Một trong những kit nDNA tốt và phổ biến trên thị trường có thông số biện luận như sau:

- + Ngưỡng bình thường : < 12 U/ml;
- + Ngưỡng nghi ngờ : từ 12 – 18 U/ml;
- + Ngưỡng dương tính : > 18 U/ml.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất, máu bị đông;

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại thông tin giữa mẫu và giấy chỉ định, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Sai sót do nhỏ mẫu vào phiến phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Xử trí: Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu.

- Chứng dương âm tính hoặc chứng âm dương tính: Nếu xảy ra hiện tượng này đều không dùng được kết quả của lần xét nghiệm này. Nguyên nhân có thể do hóa chất không đảm bảo chất lượng, do không thực hiện đủ và đúng

các bước trong quy trình xét nghiệm, nhiệt độ phản ứng không phù hợp, thực hiện bước rửa kém hiệu quả.

Xử trí: làm lại xét nghiệm, kiểm tra chỉ dùng hóa chất còn hạn sử dụng và được bảo quản đúng điều kiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất, tuân thủ đúng các bước quy trình, kiểm soát tốt nhiệt độ phòng xét nghiệm (25-30°C).

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Aesku Diagnostics GmbH. 2007. *AESKULISA nDNA instruction manual*.

**ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG ds-DNA  
BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH GẮN MEN (ELISA)  
(*Anti –dsDNA quantitative test by ELISA*)**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kháng nguyên dsDNA được gắn sẵn trong các giếng nhựa sẽ kết hợp với kháng thể đặc hiệu anti – dsDNA IgG-IgM (nếu có) trong huyết thanh người bệnh khi ủ tạo nên phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể đặc hiệu. Sau khi rửa bỏ huyết thanh thừa, cho chất cộng hợp (còn gọi là conjugate) có bản chất là hỗn hợp anti IgG và anti IgM người gắn enzym peroxidase. Khi đó cộng hợp sẽ gắn đặc hiệu vào phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể (nếu có). Sau khi rửa bỏ lượng cộng hợp dư thừa không gắn với phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể, cho tiếp vào giếng phản ứng một lượng xác định cơ chất TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Enzym peroxidase trong giếng phản ứng (nếu có) sẽ xúc tác tạo phản ứng giữa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và TMB tạo màu xanh lá cây. Phản ứng được ngừng lại bằng dung dịch a-xít H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> loãng, lúc này màu xanh của dung dịch chuyển thành màu vàng chanh, đậm độ màu tương quan thuận với nồng độ kháng thể IgG và IgM có trong huyết thanh. Xác định mức độ màu bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 450 nm hoặc bước sóng kép 450 nm/620 nm.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp nghi ngờ đến bệnh tự miễn.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên và cử nhân đã được đào tạo thực hiện kỹ thuật;
- Bác sĩ xét nghiệm: đọc kết quả, đánh giá, kiểm tra chất lượng.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy ly tâm ống máu;
- Pipet và đầu pipet loại 25μl và 1000μl;
- Dàn máy ELISA (tự động hoặc bán tự động);
- Găng tay.

#### **2.2. Hóa chất**

Kít định lượng dsDNA IgG/IgM gồm các thành phần sau:

- Dung dịch pha loãng mẫu;
- Dung dịch rửa;
- Chứng âm (negative control);
- Chứng dương (positive control);
- Chứng ngưỡng (cut-off calibrator);
- Các nồng độ kháng thể chuẩn (calibrator): thường có 6 nồng độ chuẩn, giá trị cụ thể của các ống nồng độ chuẩn tùy thuộc vào hãng sản xuất;
- Dung dịch cộng hợp (conjugates): 1 lọ cộng hợp IgG và IgM dùng để phát hiện kháng thể lớp IgG và IgM;
- Cơ chất tạo màu (TMB substrate);
- Dung dịch dừng phản ứng (stop solution);
- Các giếng phản ứng trên phiến nhựa ELISA;
- Nước cất, hoá chất khử trùng Natri hypochlorite.

### **3. Mẫu bệnh phẩm**

- Mẫu dùng là huyết thanh.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng.
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.
- Mẫu huyết thanh bảo quản ở nhiệt độ 2°C đến 8°C có thể dùng làm xét nghiệm trong vòng 7 ngày. Nếu muốn để lâu hơn mới xét nghiệm cần phải bảo quản ở tủ lạnh sâu ( $\leq -20^{\circ}\text{C}$ ). Tuy nhiên với mẫu bảo quản lạnh sâu cần tránh đông-tan nhiều lần.

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. Pha loãng mẫu 100 lần bằng dung dịch pha loãng mẫu.
2. Nhỏ 100 $\mu\text{l}$  các nồng độ chuẩn (calibrator), mẫu chứng âm, chứng dương, và các mẫu thử vào các giếng trên phiến theo sơ đồ định sẵn.
3. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng.
4. Rửa 3 lần bằng dung dịch rửa, 300 $\mu\text{l}$  /giếng/lần.
5. Nhỏ 100 $\mu\text{l}$  cộng hợp (conjugate) vào các giếng.
6. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng.
7. Rửa 3 lần bằng dung dịch rửa, 300 $\mu\text{l}$  /giếng/lần.
8. Nhỏ 100 $\mu\text{l}$  cơ chất tạo màu (TMB substrate) vào mỗi giếng.

9. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.

10. Nhỏ 100 $\mu$ l dung dịch dừng phản ứng (stop solution) vào mỗi giếng theo đúng trình tự nhỏ TMB.

11. Ủ tối thiểu 5 phút. Gõ nhẹ vào thành giếng trong 5 giây để trộn đều.

12. Đọc phiên ở bước sóng 450/620 nm (tốt hơn thì dùng bước sóng kép 450/ 620 nm) trong vòng 30 phút sau khi ủ dung dịch ngừng phản ứng.

13. Phân tích kết quả.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Căn cứ vào nồng độ chuẩn ghi trên các ống calibrator và mật độ quang đo được (chỉ số OD), nhập số liệu vào chương trình Excel để tính nồng độ kháng thể kháng dsDNA (IgG và IgM) trong các mẫu thử.

- Giá trị biện luận: Tốt nhất phải căn cứ vào các hướng dẫn biện luận và đơn vị tính đã được chuẩn hóa chất lượng của nhà sản xuất kit. Một trong những kit dsDNA tốt và phổ biến trên thị trường có thông số biện luận như sau:

+ Ngưỡng bình thường : < 12 U/ml;

+ Ngưỡng nghi ngờ : từ 12 – 18 U/ml;

+ Ngưỡng dương tính : > 18 U/ml.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất, máu bị đông.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại thông tin trên giấy chỉ định và trên ống nghiệm, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Sai sót do nhỏ mẫu vào phiên phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Xử trí: Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu.

- Chứng dương âm tính hoặc chứng âm dương tính: Nếu xảy ra hiện tượng này đều không dùng được kết quả của lần xét nghiệm này. Nguyên nhân có thể do hóa chất không đảm bảo chất lượng, do không thực hiện đủ và đúng các bước trong quy trình xét nghiệm, nhiệt độ phản ứng không phù hợp, thực hiện bước rửa kém hiệu quả.

Xử trí: làm lại xét nghiệm, kiểm tra chỉ dùng hóa chất còn hạn sử dụng và được bảo quản đúng điều kiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất, tuân thủ đúng các bước quy trình, kiểm soát tốt nhiệt độ phòng xét nghiệm (25-30°C).

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Aesku Diagnostics GmbH. 2007. *AESKULISA dsDNA instruction manual*.

# **ĐỊNH TÍNH KHÁNG THỂ KHÁNG dsDNA BẰNG KỸ THUẬT NGUNG KẾT LATEX**

*(Anti-dsDNA test by Latex)*

## **I. NGUYÊN LÝ**

Khi ủ với huyết thanh bệnh nhân, kháng nguyên dsDNA được phủ sẵn trên các hạt nhựa latex sẽ kết hợp với kháng thể đặc hiệu anti dsDNA IgG và IgM người (nếu có) trong huyết thanh tạo nên phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể gây phản ứng ngưng kết hạt latex sau khi ủ. Kết quả có thể nhận định bằng mắt thường.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp nghi đến bệnh tự miễn.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên và cử nhân đã được đào tạo thực hiện kỹ thuật;
- Bác sĩ xét nghiệm: giám sát, đánh giá, kiểm tra chất lượng.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy ly tâm ống máu;
- Găng tay.

#### **2.2 Hóa chất**

Kít định tính dsDNA gồm các thành phần sau:

- Phiến kính đen chuyên dụng cho phản ứng ngưng kết hạt latex;
- Lọ nhỏ giọt chứng âm (negative control);
- Lọ nhỏ giọt chứng dương (positive control);
- Lọ nhỏ giọt nhũ dịch latex;
- Ống hút huyết thanh;
- Hoá chất khử trùng Natri hypochlorite.

### **3. Mẫu bệnh phẩm**

- Mẫu dùng là huyết thanh.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng.



- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.

- Mẫu huyết thanh bảo quản ở nhiệt độ 2°C đến 8°C có thể dùng làm xét nghiệm trong vòng 7 ngày. Nếu muốn để lâu hơn mới xét nghiệm cần phải bảo quản ở tủ lạnh sâu ( $\leq -20^{\circ}\text{C}$ ). Tuy nhiên với mẫu bảo quản lạnh sâu cần tránh đông-tan nhiều lần.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Nhỏ 1 giọt nhũ dịch latex vào các ô phản ứng trên phiến chuyên dụng.

- Dùng ống hút mẫu hút và nhỏ 1 giọt huyết thanh hoặc nhỏ 1 giọt chứng âm hoặc 1 giọt chứng dương vào các ô phản ứng tương ứng đã nhỏ trước 1 giọt nhũ dịch Latex.

- Dùng đầu dẹt của ống hút khuấy trộn đều nhũ dịch với phần huyết thanh vừa nhỏ, lắc nhẹ nhàng phiến và đọc kết quả sau 2 phút. Thực hiện xét nghiệm ở nhiệt độ phòng.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Bình thường kết quả âm tính. Mẫu âm tính nếu: trong vùng phản ứng trên phiến kính đen thấy huyền dịch mịn màu trắng đục đồng nhất.

- Mẫu dương tính nếu: trong vùng phản ứng trên phiến kính đen thấy huyền dịch có hiện tượng ngưng kết thành đám lớn màu trắng đục hoặc thành các hạt nhỏ lấm tấm màu trắng đục. Mẫu dương tính chứng tỏ trong huyết thanh bệnh nhân có kháng thể tự miễn kháng dsDNA.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất, máu bị đông.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại thông tin trên giấy chỉ định và trên ống nghiệm, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Sai sót do nhỏ mẫu vào phiến phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Xử trí: Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu.

- Gặp phản ứng âm tính giả (chứng dương không ngưng kết) hoặc dương tính giả (chứng âm ngưng kết).

Xử trí: làm lại xét nghiệm và tuân thủ đúng các bước của quy trình, kiểm soát tốt nhiệt độ phòng thí nghiệm (25-30°C). Nếu hiện tượng âm tính giả hoặc

dương tính giả vẫn tiếp diễn phải chuyển sang dùng hộp hóa chất mới, còn hạn và bảo quản đúng cách.

- Nhận định kết quả không chính xác.

Xử trí: Luôn làm chứng âm và chứng dương trong mỗi lần xét nghiệm.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

OMEGA Diagnostic (Mỹ). 2000. *Avitex SLE Ref OD093/ OD043 Introduction and Intended Use*.

# **ĐỊNH TÍNH KHÁNG THỂ KHÁNG NHÂN BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH GẮN MEN (ELISA)**

*(Anti Nuclear Antibody -ANA qualitative test by ELISA)*

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kháng nguyên nhân (nuclear antigen) được gắn sẵn trong các giếng nhựa sẽ kết hợp với kháng thể đặc hiệu kháng nhân (anti nuclear antibodies) lớp IgG và IgM (nếu có) trong huyết thanh người bệnh khi ủ tạo nên phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể. Sau khi rửa bỏ huyết thanh thừa, cho chất cộng hợp (còn gọi là conjugate) có bản chất là hỗn hợp anti IgG và anti IgM người gắn enzym peroxidase. Khi đó cộng hợp sẽ gắn đặc hiệu vào phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể (nếu có). Sau khi rửa bỏ lượng cộng hợp dư thừa không gắn với phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể, cho tiếp vào giếng phản ứng một lượng xác định cơ chất TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Enzym peroxidase trong giếng phản ứng (nếu có) sẽ xúc tác tạo phản ứng giữa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và TMB tạo màu xanh lá cây. Phản ứng được ngừng lại bằng dung dịch a-xít H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> loãng, lúc này màu xanh của dung dịch chuyển thành màu vàng chanh, đậm độ màu tương quan thuận với nồng độ kháng thể IgG và IgM có trong huyết thanh. Xác định mức độ màu bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 450 nm hoặc bước sóng kép 450 nm/620 nm.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp nghi đến bệnh tự miễn.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên và cử nhân đã được đào tạo thực hiện kỹ thuật;
- Bác sĩ xét nghiệm: đọc kết quả, đánh giá, kiểm tra chất lượng.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy ly tâm ống máu;
- Pipet và đầu pipet loại 25μl và 1000μl;
- Dàn máy ELISA (tự động hoặc bán tự động);
- Găng tay.

#### **2.2. Hóa chất**

Kít định lượng ANA IgG/IgM gồm các thành phần sau:

- Dung dịch pha loãng mẫu;
- Dung dịch rửa;
- Chứng âm (negative control);
- Chứng dương (positive control);
- Chứng ngưỡng (cut-off calibrator);
- Dung dịch cộng hợp (conjugates) IgG và IgM;
- Cơ chất tạo màu (TMB substrate);
- Dung dịch dừng phản ứng (stop solution);
- Các giếng phản ứng trên phiến nhựa ELISA.
- Nước cất, hoá chất khử trùng Natri hypochlorite.

### **3. Mẫu bệnh phẩm**

- Mẫu dùng là huyết thanh.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng.
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.
- Mẫu huyết thanh bảo quản ở nhiệt độ 2°C đến 8°C có thể dùng làm xét nghiệm trong vòng 7 ngày. Nếu muốn để lâu hơn mới xét nghiệm cần phải bảo quản ở tủ lạnh sâu ( $\leq -20^{\circ}\text{C}$ ) Tuy nhiên với mẫu bảo quản lạnh sâu cần tránh đông-tan nhiều lần.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. Pha loãng mẫu 100 lần bằng dung dịch pha loãng mẫu.
2. Nhỏ 100 $\mu\text{l}$  các mẫu chứng âm, chứng dương và mẫu thử vào các giếng tương ứng trên phiến theo sơ đồ định sẵn.
3. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng.
4. Rửa 3 lần bằng dung dịch rửa, 300 $\mu\text{l}$  /giếng/lần.
5. Nhỏ 100 $\mu\text{l}$  cộng hợp (conjugate) IgG và IgM vào các giếng tương ứng.
6. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng.
7. Rửa 3 lần bằng dung dịch rửa, 300 $\mu\text{l}$  /giếng/lần.
8. Nhỏ 100 $\mu\text{l}$  cơ chất tạo màu (TMB substrate) vào mỗi giếng.
9. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
10. Nhỏ 100 $\mu\text{l}$  dung dịch dừng phản ứng (stop solution) vào mỗi giếng theo đúng trình tự nhỏ TMB.

11. Ủ tối thiểu 5 phút. Gõ nhẹ vào thành giếng trong 5 giây để trộn đều.
12. Đọc phiên ở bước sóng 450/620 nm (tốt hơn thì dùng bước sóng kép 450/ 620 nm) trong vòng 30 phút sau khi ủ dung dịch ngừng phản ứng.
13. Phân tích kết quả.

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Căn cứ vào mật độ quang đo được ở các giếng cut-of calibrator, chứng âm, chứng dương, và các mẫu thử để nhận định kết quả xét nghiệm như sau

+ Âm tính:  $OD_{\text{mẫu}} < OD_{\text{cut-off}} - 10\%$

+ Dương tính:  $OD_{\text{mẫu}} > OD_{\text{cut-off}} + 10\%$

+ Vùng xám:  $OD_{\text{cut-off}} - 10\% < OD_{\text{mẫu}} < OD_{\text{cut-off}} + 10\%$

- Giá trị biện luận: Bình thường mẫu âm tính. Nếu mẫu dương tính chứng tỏ trong huyết thanh bệnh nhân có kháng thể tự miễn kháng nhân tế bào (ANA). Nếu mẫu trong khoảng nghi ngờ (vùng xám), cần xét nghiệm lại sau 1-3 tháng.

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất, máu bị đông.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại thông tin trên giấy chỉ định và trên ống máu, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Sai sót do nhỏ mẫu vào phiên phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Xử trí: Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu.

- Chứng dương âm tính hoặc chứng âm dương tính. Nếu xảy ra đều không dùng kết quả này được. Nguyên nhân có thể do hóa chất không đảm bảo chất lượng, do không thực hiện đủ và đúng các bước trong quy trình xét nghiệm, nhiệt độ phản ứng không phù hợp, thực hiện bước rửa kém hiệu quả.

Xử trí: làm lại xét nghiệm, kiểm tra chỉ dùng hóa chất còn hạn sử dụng và được bảo quản đúng điều kiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất, tuân thủ đúng các bước quy trình, kiểm soát tốt nhiệt độ phòng xét nghiệm (25-30° C).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Aesku Diagnostics GmbH. 2007. *AESKULISA ANA-8S instruction manual REF 3100*.

**ĐỊNH LƯỢNG ANTI -  $\beta_2$  GLYCOPROTEIN**  
**BẰNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH GẮN MEN (ELISA)**  
*(Anti –  $\beta_2$  Glycoprotein quantitative test by ELISA)*

## **I. NGUYÊN LÝ**

$\beta_2$  GLYCOPROTEIN là một loại protein tích điện âm. Kháng thể kháng  $\beta_2$  GLYCOPROTEIN được cho là có ý nghĩa trong chẩn đoán hội chứng Kháng phospholipid.

Kháng nguyên  $\beta_2$  GLYCOPROTEIN được gắn sẵn trong các giếng nhựa sẽ kết hợp với kháng thể đặc hiệu anti –  $\beta_2$  GLYCOPROTEIN IgG hoặc IgM (nếu có) trong huyết thanh người bệnh khi ủ tạo nên phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể. Sau khi rửa bỏ huyết thanh thừa, cho chất cộng hợp (còn gọi là conjugate) có bản chất là hỗn hợp anti IgG hoặc anti IgM người gắn enzym peroxidase. Khi đó cộng hợp sẽ gắn đặc hiệu vào phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể. Sau khi rửa bỏ lượng cộng hợp dư thừa không gắn với phức hợp Kháng nguyên-Kháng thể, cho tiếp vào giếng phản ứng một lượng xác định cơ chất TMB/ $H_2O_2$ . Enzym peroxidase trong giếng phản ứng sẽ xúc tác tạo phản ứng giữa  $H_2O_2$  và TMB tạo màu xanh lá cây. Phản ứng được ngừng lại bằng dung dịch a-xít  $H_2SO_4$  loãng, lúc này màu xanh của dung dịch chuyển thành màu vàng chanh, đậm độ màu tương quan thuận với nồng độ kháng thể IgG và IgM có trong huyết thanh. Xác định mức độ màu bằng phương pháp đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 450 nm hoặc bước sóng kép 450 nm/620 nm.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp nghi đến hội chứng anti-phospholipid

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên và cử nhân đã được đào tạo thực hiện kỹ thuật.
- Bác sĩ xét nghiệm: đọc kết quả, đánh giá, kiểm tra chất lượng.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy ly tâm ống máu.
- Pipet và đầu pipet loại 25 $\mu$ l và 1000 $\mu$ l.

- Dàn máy ELISA (tự động hoặc bán tự động);
- Găng tay.

## **2.2. Hóa chất**

Kít định lượng  $\beta_2$  GLYCOPROTEIN IgG/IgM gồm các thành phần sau:

- Dung dịch pha loãng mẫu;
- Dung dịch rửa;
- Chứng âm (negative control);
- Chứng dương (positive control);
- Chứng ngưỡng (cut-off calibrator);
- Các nồng độ kháng thể chuẩn (calibrator): thường có 6 nồng độ chuẩn, giá trị cụ thể của các ống nồng độ chuẩn tùy thuộc vào hãng sản xuất;
- Dung dịch cộng hợp (conjugate): 1 lọ cộng hợp IgG và 1 lọ cộng hợp IgM riêng biệt dùng để phát hiện IgG hoặc IgM tương ứng;
- Cơ chất tạo màu (TMB substrate);
- Dung dịch dừng phản ứng (stop solution);
- Các giếng phản ứng trên phiến nhựa ELISA.
- Nước cất, hoá chất khử trùng Natri hypochlorite.

## **3. Mẫu bệnh phẩm**

- Mẫu dùng là huyết thanh.
- Cần tách huyết thanh càng sớm càng tốt để tránh hiện tượng tan máu làm ảnh hưởng đến kết quả phản ứng.
- Nếu có lẫn hồng cầu hoặc những thành phần hữu hình trong mẫu huyết thanh thì cần ly tâm mẫu để loại bỏ các thành phần đó trước khi xét nghiệm.
- Mẫu huyết thanh bảo quản ở nhiệt độ 2°C đến 8°C có thể dùng làm xét nghiệm trong vòng 7 ngày. Nếu muốn để lâu hơn mới xét nghiệm cần phải bảo quản ở tủ lạnh sâu ( $\leq -20^\circ\text{C}$ ). Tuy nhiên với mẫu bảo quản lạnh sâu cần tránh đông-tan nhiều lần.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. Pha loãng mẫu 100 lần bằng dung dịch pha loãng mẫu.
2. Nhỏ 100 $\mu\text{l}$  các nồng độ chuẩn (calibrator), mẫu chứng âm, chứng dương, các mẫu thử vào các giếng trên phiến theo sơ đồ định sẵn, mỗi loại 2 giếng (1 sẽ dùng cho IgG, 1 dùng cho IgM ).
3. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng.
4. Rửa 3 lần bằng dung dịch rửa, 300 $\mu\text{l}$  /giếng/lần.

5. Nhỏ 100 $\mu$ l cộng hợp (conjugate) IgG hoặc IgM vào các giếng tương ứng.
6. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng.
7. Rửa 3 lần bằng dung dịch rửa, 300 $\mu$ l /giếng/lần.
8. Nhỏ 100 $\mu$ l cơ chất tạo màu (TMB substrate) vào mỗi giếng.
9. Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.
10. Nhỏ 100 $\mu$ l dung dịch dừng phản ứng (stop solution) vào mỗi giếng theo đúng trình tự nhỏ TMB.
11. Ủ tối thiểu 5 phút. Gõ nhẹ vào thành giếng trong 5 giây để trộn đều.
12. Đọc phiên ở bước sóng 450/620 nm (tốt hơn thì dùng bước sóng kép 450/ 620 nm) trong vòng 30 phút sau khi ủ dung dịch ngừng phản ứng.
13. Phân tích kết quả.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Căn cứ vào nồng độ chuẩn ghi trên các ống calibrator và mật độ quang đo được (chỉ số OD), nhập số liệu vào chương trình Excel để tính nồng độ kháng thể kháng  $\beta$ 2-glycoprotein (IgG hoặc IgM) trong các mẫu thử.

- Giá trị biện luận: Tốt nhất phải căn cứ vào các hướng dẫn biện luận và đơn vị tính đã được chuẩn hóa chất lượng của nhà sản xuất kit. Một trong những kit  $\beta$ 2-glycoprotein tốt và phổ biến trên thị trường có thông số biện luận như sau:

- + Ngưỡng bình thường : < 12 U/ml
- + Ngưỡng nghi ngờ : Từ 12 – 18 U/ml
- + Ngưỡng dương tính : > 18 U/ml

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy chỉ định xét nghiệm và trên ống máu không thống nhất, máu bị đông.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại thông tin trên giấy chỉ định và trên ống máu, nếu cần phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Sai sót do nhỏ mẫu vào phiên phản ứng không thống nhất thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Xử trí: Vẽ sơ đồ nhỏ mẫu trước khi làm xét nghiệm. Kiểm tra đối chiếu thông tin vị trí nhỏ mẫu trước khi nhỏ mẫu.

- Chứng dương âm tính hoặc chứng âm dương tính: Nếu xảy ra hiện tượng này đều không dùng được kết quả lần xét nghiệm đó. Nguyên nhân có thể



do hóa chất không đảm bảo chất lượng, do không thực hiện đủ và đúng các bước trong quy trình xét nghiệm, nhiệt độ phản ứng không phù hợp, thực hiện bước rửa kém hiệu quả.

Xử trí: thực hiện lại xét nghiệm, kiểm tra chỉ dùng hóa chất còn hạn sử dụng và được bảo quản đúng điều kiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất, tuân thủ đúng các bước quy trình, kiểm soát tốt nhiệt độ phòng xét nghiệm (25-30°C).

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Aesku Diagnostics GmbH. 2007. *AESKULISA Beta2- Glycoprotein GM instruction manual*.

# **ĐẾM TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU CD34<sup>+</sup> BẰNG MÁY PHÂN TÍCH TẾ BÀO DÒNG CHẢY (FLOW CYTOMETER)**

*(Hematopoietic stem cell CD34<sup>+</sup> enumeration test by flow cytometry)*

## **I. NGUYÊN LÝ**

Tế bào gốc tạo máu có kháng nguyên CD34 trên bề mặt. Nếu ủ kháng thể anti CD34 với mẫu bệnh phẩm có tế bào gốc tạo máu, kháng thể này sẽ gắn đặc hiệu lên bề mặt các tế bào gốc tạo máu mang CD34. Dùng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang phân tích trên máy phân tích tế bào dòng chảy (flow cytometer) có thể đếm chính xác số lượng và tỷ lệ % tế bào gốc tạo máu CD34 trong mẫu bệnh phẩm.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp cần đếm số lượng tế bào gốc tạo máu CD34<sup>+</sup>.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên và cử nhân đã được đào tạo thực hiện kỹ thuật;
- Bác sĩ xét nghiệm: đọc kết quả, đánh giá, kiểm tra chất lượng.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy phân tích tế bào dòng chảy (có thể phân tích các kênh màu huỳnh quang 7ADD, FITC và PE).
- Máy ly tâm ống máu.
- Pipet và đầu pipet loại 25 $\mu$ l và 1000 $\mu$ l.
- Găng tay.

#### **2.2. Hóa chất**

- Bộ kit đếm CD34 gồm có các hóa chất sau: 7AAD, CD45-FITC/CD34-PE, CD45-FITC/Isotype Control-PE, hạt tham chiếu (có nồng độ xác định), dung dịch ly giải hồng cầu.
- Các dung dịch chạy máy và dung dịch rửa máy để vận hành máy phân tích tế bào dòng chảy;
- Nước cất, hoá chất khử trùng Natri hypochlorite.

### **3. Bệnh phẩm**

Bệnh phẩm có thể là mẫu máu ngoại vi, mẫu máu cuống rốn, mẫu lấy từ khối tế bào gốc máu ngoại vi tươi hoặc khối tế bào gốc máu ngoại vi đông lạnh sau rã đông, hoặc mẫu dịch hút tủy xương.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy tối thiểu 0,5 ml mẫu bệnh phẩm. Nếu mẫu bệnh phẩm là máu ngoại vi thì chống đông bằng EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid). Mẫu bệnh phẩm đảm bảo chất lượng là mẫu bệnh phẩm không đông vón và không lâu quá 1 giờ sau khi lấy khỏi tĩnh mạch hoặc sau khi rã đông.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Đếm số lượng bạch cầu có trong mẫu thử, pha loãng mẫu thử về nồng độ  $10 \times 10^9$  tế bào/lít, ghi lại hệ số pha loãng (số lần pha loãng).
- Lấy 100  $\mu$ l mẫu thử đã pha loãng cho vào các ống 1, 2 và 3.
- Thêm 20  $\mu$ l 7AAD vào cả 3 ống 1, 2, 3.
- Thêm 20  $\mu$ l CD45-FITC/CD34-PE vào ống 1 và ống 2.
- Thêm 20  $\mu$ l Control (CD45-FITC/Isotype PE) vào ống số 3.
- Vortex đều các ống và ủ nhiệt độ phòng trong 20 phút, tránh ánh sáng.
- Thêm 2000  $\mu$ l dung dịch ly giải hồng cầu, ủ nhiệt độ phòng 10 phút.
- Ngay lập tức thêm 100  $\mu$ l huyền dịch hạt tham chiếu vào các ống 1, 2, 3.
- Trộn lắc đều các ống.
- Phân tích flow cytometry bằng chương trình đếm CD34 có sẵn trên máy flow cytometry.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Đọc kết quả**

Kết quả do chương trình máy tính tự động xuất ra dưới dạng chỉ số CD34%, số đếm CD34 tuyệt đối (tế bào/  $\mu$ l).

### **2. Nhận định kết quả**

Nếu kết quả thu được giữa ống 1 và ống 2 khác nhau dưới hoặc bằng 10% thì kết quả chấp nhận tốt. Nếu khác biệt trên 10% cần phải làm lại xét nghiệm, phải chú ý thực hiện thật tốt kỹ thuật hút mẫu và hút hóa chất bằng pipet.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Đặt nhằm vị trí giữa mẫu chứng âm (Isotype Control) với các mẫu thử.

Xử trí: kiểm tra đối chiếu vị trí đặt ống đúng thứ tự trước khi phân tích

- Máy chỉ cho ra kết quả CD34%, không tính ra được kết quả tế bào CD34/  $\mu$ l. Thường do quên không nhập trị số nồng độ hạt tham chiếu vào phần mềm.

Xử trí: Chạy máy phân tích lại (không cần ủ lại mẫu), kiểm tra xác định đã nhập trị số nồng độ hạt tham chiếu trước khi phân tích trên máy.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Beckman Coulter. 2011. *Haematopoietic Stem Cell CD34+ Enumeration Kit Instruction Manual*.

# **ĐỘ CHÉO TRONG GHÉP BẰNG KỸ THUẬT PHÂN TÍCH TẾ BÀO DÒNG CHẢY (FLOW CYTOMETRY)**

*(Flow cytometry Lympho Cross-match test)*

## **I. NGUYÊN LÝ**

Bệnh nhân có thể đã miễn cảm với các kháng nguyên hệ HLA đồng loài từ trước hoặc bị miễn cảm với kháng nguyên hệ HLA trong quá trình điều trị trước ghép đồng loài (ghép tạng hoặc ghép tế bào gốc tạo máu). Khi đó trong máu bệnh nhân có thể sẽ hình thành các kháng thể miễn dịch đặc hiệu chống lại HLA đã miễn cảm. Nếu trong máu bệnh nhân ghép có kháng thể đặc hiệu chống lại HLA người cho thì kết quả sau ghép rất xấu, thường bị thải ghép tối cấp. Để tránh tình trạng thải ghép tối cấp, trước khi ghép cần làm xét nghiệm độ chéo nhằm phát hiện trong máu bệnh nhân dự kiến ghép có kháng thể đặc hiệu kháng lại HLA người cho hay không. Kháng nguyên hệ HLA có 2 lớp, HLA lớp 1 và HLA lớp 2. HLA lớp 1 xuất hiện trên bề mặt tất cả các tế bào có nhân, HLA lớp 2 có mặt chủ yếu trên các tế bào lympho B, tế bào mono, và tế bào tua gai (dendritic cell). Do vậy nếu ủ huyết thanh bệnh nhân (người nhận) với lympho người cho, kháng thể đặc hiệu HLA lớp 1 và/hoặc lớp 2 (nếu có) sẽ gắn lên bề mặt tế bào lympho (lympho T và/hoặc lympho B) người cho. Xét nghiệm độ chéo lympho dùng để phát hiện kháng thể kháng HLA của người nhận ghép trong lựa chọn người cho, trong theo dõi phản ứng sau ghép. Để xét nghiệm độ chéo lympho trước kia người ta hay dùng kỹ thuật vi độc tế bào lympho. Tuy nhiên hiện nay do tính ưu việt về độ nhạy, độ chính xác, và tốc độ phân tích, kỹ thuật phân tích tế bào dòng chảy được dùng nhiều hơn.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Bệnh nhân trước ghép và sau ghép tạng, ghép tủy.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên và cử nhân đã được đào tạo thực hiện kỹ thuật;
- Bác sĩ xét nghiệm: đọc kết quả, đánh giá, kiểm tra chất lượng.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy phân tích tế bào dòng chảy (4 màu huỳnh quang trở lên);
- Máy ly tâm ống máu;
- Pipet và đầu pipet loại 25µl và 1000µl;
- Các ống vi ly tâm (ống Eppendorf) 1,5 ml.
- Găng tay.

### **2.2. Hóa chất**

- Dung dịch đệm PBS;
- Hỗn hợp kháng thể CD45/CD3/CD19/anti Human IgG, mỗi loại kháng thể gắn 1 màu huỳnh quang khác nhau;
- Dung dịch ly giải hồng cầu;
- Nước cất, hoá chất khử trùng Natri hypochlorite.

### **3. Bệnh phẩm**

Bệnh phẩm cần lấy là mẫu máu ngoại vi của bệnh nhân và của người cho.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 2 ml máu chống đông bằng EDTA của người cho.
- Lấy 2 ml máu đông của bệnh nhân và 2 ml máu đông của người cho.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Chuẩn bị tế bào người cho:
  - + Lấy 100 µl máu toàn phần người cho vào mỗi ống vi ly tâm 1,5 ml (cần làm 2 ống).
  - + Thêm 1000 µl dung dịch ly giải hồng cầu, ủ nhiệt độ phòng 10 phút.
  - + Ly tâm 3000 vòng/phút x 3 phút, đổ bỏ dịch nổi, giữ cặn tế bào.
  - + Thêm 1 ml dung dịch PBS, tái huyền dịch cặn tế bào, ly tâm rửa 3000 vòng/phút x 3 phút, đổ bỏ dịch nổi
- Chuẩn bị huyết thanh bệnh nhân và huyết thanh người cho: ly tâm ống máu đông, tách huyết thanh.
- Ủ huyết thanh bệnh nhân hoặc huyết thanh người cho với tế bào người cho.
  - + Nhỏ 100 µl huyết thanh bệnh nhân hoặc huyết thanh người cho vào các ống Eppendorf chứa tế bào người cho. Trộn đều và ủ 37°C trong 1 giờ. Ống ủ huyết thanh bệnh nhân với tế bào người cho là ống thử phát hiện kháng thể kháng HLA, ống ủ huyết thanh người cho với tế bào người cho là ống tự chứng.

+ Thêm 1 ml PBS, trộn đều trong 15 giây. Ly tâm 3000 vòng/phút x 3 phút. Hút bỏ dịch nổi. Lặp lại quy trình trên 2 lần

- Ủ kháng thể: Nhỏ 20 µl hỗn hợp kháng thể anti CD45/anti CD3/anti CD19/anti human IgG, ủ 20 phút nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.

- Phân tích: Phân tích flow cytometry bằng chương trình Cross match đã lập sẵn trên máy flow cytometry.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Đọc kết quả**

Đọc kết quả ở các vùng lympho T và lympho B. Kết quả âm tính khi quần thể tế bào cần phân tích nằm trong vùng âm tính. Kết quả dương tính khi quần thể tế bào phân tích nằm trong vùng dương tính, có thể biểu hiện kết quả bằng tỷ lệ % quần thể phân tích nằm trong vùng dương tính.

### **2. Nhận định kết quả**

Bình thường: độ chéo lympho B và lympho T đều âm tính.

Có kháng thể thường trực kháng lympho người cho: độ chéo lympho B dương tính và/hoặc độ chéo lympho T dương tính.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Các vùng tế bào lympho không nằm trong cửa sổ chương trình chạy. Nguyên nhân có thể do thực hiện không đúng, lượng kháng thể ủ không đủ, thực hiện không đủ các bước của quy trình, ủ không đủ thời gian, hút pipet không tốt, tắc kim hút trên máy...

Xử trí: Làm lại xét nghiệm và tuân thủ theo đúng quy trình. Kiểm tra máy trước khi phân tích, phải rửa máy, đuổi bọt khí và thông kim hút (nếu cần) theo hướng dẫn đi theo máy.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Harmer A.W., Garner S., Bell A.E. et al. 1996. Evaluation of the flow cytometric crossmatch. Preliminary results of a multicentre study. Transplantation 61, 1108-11.
2. Beckman Coulter. 2011. IOTest CD45 Used manual

3. Beckman Coulter. 2011. IOTest CD3 Used manual
4. Beckman Coulter. 2011. IOTest CD19 Used manual
5. Beckman Coulter. 2011. IOTest Human IgG Used manual



# **ĐẾM TẾ BÀO LYMPHO T-CD3, T-CD4, T-CD8 BẰNG KỸ THUẬT PHÂN TÍCH TẾ BÀO DÒNG CHẢY**

*(Lympho T-CD3, -CD4, -CD8 enumeration by flow cytometry)*

## **I. NGUYÊN LÝ**

CD3 là kháng nguyên lympho T chung. CD3 có trên bề mặt tất cả các tế bào lympho T. Kháng nguyên CD4 có trên bề mặt tế bào lympho T hỗ trợ, tế bào mono, và một số bạch cầu hạt hoạt hóa. Kháng nguyên CD8 có trên bề mặt các tế bào lympho T gây độc và lympho T ức chế. Do vậy, sử dụng kỹ thuật phân tích tế bào dòng chảy dùng các kháng thể đơn dòng kháng CD3, CD4, CD8 có gắn màu huỳnh quang khác nhau có thể đồng thời phát hiện và xác định chính xác các dấu ấn trên bề mặt các tế bào lympho cũng như có thể đếm được tỷ lệ phần trăm và số lượng tuyệt đối các tế bào lympho T-CD3, T-CD4, và T-CD8 trong mẫu bệnh phẩm.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp cần đánh giá tình trạng miễn dịch tế bào, cần đếm CD3, 4, 8.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên và cử nhân đã được đào tạo thực hiện kỹ thuật;
- Bác sĩ xét nghiệm: đọc kết quả, đánh giá, kiểm tra chất lượng.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy phân tích tế bào dòng chảy (4 màu huỳnh quang trở lên);
- Máy ly tâm ống máu;
- Pipet và đầu pipet loại 25µl và 1000µl;
- Ống nghiệm chuyên dụng cho phân tích trên máy đếm tế bào dòng chảy;
- Găng tay.

#### **2.2. Hóa chất**

- Dung dịch đệm PBS;
- Kháng thể đơn dòng kháng CD45-PC5, CD3-ECD, CD4-PE, CD8-FITC;
- Hạt Flow count;

- Dung dịch ly giải hồng cầu.
- Nước cất, hoá chất khử trùng Natri hypochlorite,

### **3. Bệnh phẩm**

Là mẫu máu ngoại vi của người bệnh.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 2 ml máu ngoại vi chống đông bằng EDTA.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Lấy 100 µl máu ngoại vi chống đông cho vào 1 ống phân tích tế bào dòng chảy đã ghi tên người bệnh.
- Thêm 20 µl mỗi loại kháng thể CD45-PC5, CD3-ECD, CD4-PE, CD8-FITC.
- Trộn đều, ủ nhiệt độ phòng trong 20 phút, tránh ánh sáng.
- Thêm 2000 µl dung dịch ly giải hồng cầu, ủ nhiệt độ phòng trong 10 phút.
- Ngay sau khi kết thúc bước ủ trên, thêm 100 µl huyền dịch hạt tham chiếu, trộn đều và đem phân tích trên máy phân tích tế bào dòng chảy.
- Phân tích bằng chương trình đếm T-CD3\_T-CD4\_T-CD8 có sẵn trên máy phân tích tế bào dòng chảy (lưu ý nhập liệu số lượng bạch cầu có trong mẫu và nồng độ hạt tham chiếu).

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Đọc kết quả**

Kết quả do chương trình máy tính tự động xuất ra dưới dạng số lượng tuyệt đối T-CD3, T-CD4, T-CD8 và tỷ lệ % T-CD3, T-CD4, T-CD8.

### **2. Nhận định kết quả**

- Lưu ý số lượng tuyệt đối và tỷ lệ T-CD4 được lấy từ quần thể tế bào lympho có CD3+CD4+, số lượng tuyệt đối và tỷ lệ T-CD8 được lấy từ quần thể tế bào lympho có CD3+CD8+.

- Bình thường:
 

|        |                    |          |
|--------|--------------------|----------|
| T-CD3: | 800-2300 tế bào/uL | (55-80%) |
| T-CD4: | 400-1300 tế bào/uL | (35-55%) |
| T-CD8: | 250-800 tế bào/uL  | (20-35%) |

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Các vùng tế bào lympho không nằm trong cửa sổ chương trình chạy. Nguyên nhân có thể do thực hiện không đúng, lượng kháng thể ủ không đủ, thực hiện không đủ các bước của quy trình, ủ không đủ thời gian, hút pipet không tốt, tắc kim hút trên máy...

Xử trí: Làm lại xét nghiệm và tuân thủ theo đúng quy trình. Kiểm tra máy trước khi phân tích, phải rửa máy, đuổi bọt khí và thông kim hút (nếu cần) theo hướng dẫn đi theo máy.

- Chỉ ra kết quả tỷ lệ % T-CD3, T-CD4, T-CD8 mà không có số lượng tuyệt đối T-CD3, T-CD4, T-CD8. Thường do quên không nhập thông số về số lượng bạch cầu trong mẫu và nồng độ hạt tham chiếu.

Xử trí: Phân tích lại ống mẫu đã ủ. Lưu ý nhập thông số về số lượng bạch cầu trong mẫu và nồng độ hạt tham chiếu.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Beckman Coulter. 2011. IOTest CD45-PC5 Used manual.
2. Beckman Coulter. 2011. IOTest CD3-ECD Used manual.
3. Beckman Coulter. 2011. IOTest CD4-PE Used manual.
4. Beckman Coulter. 2011. IOTest CD8-FITC Used manual.

## **XÉT NGHIỆM CD55/CD59 BẠCH CẦU**

*(White blood cell CD55/CD59 analysis by flow cytometry)*

### **I. NGUYÊN LÝ**

- Đái huyết sắc tố kích phát ban đêm là một bệnh rối loạn tế bào gốc tạo máu. Đột biến xảy ra ở tế bào gốc tạo máu làm mất gen GPI-A, gen này tổng hợp protein gắn màng glycosyl-phosphatidylinositol (GPI). Do mất hoặc thiếu hụt các GPI nên các protein gắn màng (như CD55, CD59) gắn ít hoặc không gắn được lên màng tế bào hồng cầu do vậy không bảo vệ được tế bào trước sự tấn công của bổ thể, dẫn tới các tế bào hồng cầu dễ bị hoạt hóa bởi bổ thể và gây vỡ hồng cầu.

- Trên phân tích tế bào dòng chảy, tế bào máu ngoại vi ủ với anti CD45 sau ly giải hồng cầu sẽ phân bố thành 3 vùng quần thể rõ rệt: vùng bạch cầu hạt, vùng mono, và vùng lympho.

- Dựa trên các đặc tính này, kỹ thuật flow cytometry sử dụng các kháng thể đặc hiệu gắn huỳnh quang để phát hiện sự có mặt, thiếu hụt, hoặc mất các thụ thể CD55 và/hoặc CD59 trên các quần thể tế bào bạch cầu. Từ đó góp phần chẩn đoán xác định bệnh đái huyết sắc tố kích phát ban đêm.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Suy tủy xương, nghĩ đến bệnh đái huyết sắc tố kích phát ban đêm.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên và cử nhân đã được đào tạo thực hiện kỹ thuật;
- Bác sĩ xét nghiệm: đọc kết quả, đánh giá, kiểm tra chất lượng.

#### **2. Phương tiện, hóa chất.**

##### **2.1. Phương tiện**

- Máy phân tích tế bào dòng chảy (máy flow cytometer);
- Máy ly tâm;
- Máy lắc trộn;
- Pipet man và đầu pipet loại 250 µl và 1000 µl;
- Ống nghiệm flow cytometry (chuyên dụng cho máy phân tích tế bào dòng chảy).
- Găng tay.

## **2.2. Hóa chất**

- Anti CD45-PC5;
- Anti CD55-PE;
- Anti CD59-FITC;
- Dung dịch ly giải hồng cầu;
- Dung dịch sheath chạy máy flow;
- Dung dịch đệm PBS.
- Nước cất, hoá chất khử trùng Natri hypochlorite.

## **3. Bệnh phẩm**

- Là mẫu máu ngoại vi chống đông bằng EDTA. Mẫu được lấy từ các người bệnh nghi ngờ đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm và người bệnh có hội chứng rối loạn sinh tủy.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- 2ml máu ngoại vi chống đông bằng EDTA;
- Mẫu cần được ủ kháng thể ngay trong vòng 6 giờ sau lấy mẫu.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị mẫu**

- Lấy 100 µl máu cho vào 1 ống nghiệm flow cytometry.
- Ly giải hồng cầu bằng 1 ml dung dịch ly giải hồng cầu, ủ nhiệt độ phòng trong 10 phút.
- Ly tâm rửa huyền dịch tế bào sau ly giải hồng cầu 2 lần, mỗi lần làm như sau: thêm 3 ml dung dịch PBS vào ống flow cytometry, trộn lắc đều và ly tâm 2000 vòng/phút trong 3 phút. Đổ bỏ dịch nổi, để lại cặn tế bào và lượng dịch còn lại (khoảng 100 µl). Trộn đều cặn và lượng dịch còn lại.

#### **2.2. Ủ kháng thể**

- Cho kháng thể anti CD45-PC5, anti CD55-PE, anti CD59-FITC (mỗi loại 20 µl) vào ống flow cytometry chứa cặn tế bào đã phá hồng cầu ở bước trên. Trộn đều và ủ nhiệt độ phòng 20 phút, tránh ánh sáng.
- Rửa bỏ kháng thể thừa: sau ủ, thêm 3 ml dung dịch PBS vào ống flow cytometry, trộn đều và ly tâm 2000 vòng/phút trong 3 phút. Đổ bỏ dịch nổi, để lại cặn tế bào.
- Thêm 1 ml PBS vào ống cặn tế bào, trộn đều. Lúc này ống đã sẵn sàng cho phân tích.

### **2.3. Phân tích CD55, CD59 bạch cầu trên máy flow cytometry**

- Đưa ống flow cytometry vào vị trí đọc trên máy.
- Mở chương trình phân tích CD55, CD59 bạch cầu đã lập sẵn trên máy.

Nhập vị trí ống phân tích và chạy chương trình phần mềm phân tích.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Chủ yếu quan sát phân tích trên quần thể bạch cầu mono và bạch cầu hạt, vùng bạch cầu lympho không thấy rõ sự biến đổi.

- Nếu mức độ dương tính CD55 và/hoặc CD59 của quần thể bạch cầu hạt và bạch cầu mono nằm trong giới hạn bình thường (dương tính >95%): không có thiếu hụt hoặc mất CD55, CD59 bạch cầu.

- Nếu mức độ dương tính CD55 và/hoặc CD59 của quần thể bạch cầu hạt và bạch cầu mono thấp  $\leq 95\%$  (dương tính  $\leq 95\%$ ): có thiếu hụt và mất CD55 và/hoặc CD59 bạch cầu. Đây là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán bệnh Đái huyết sắc tố kịch phát ban đêm.

Bình thường: Không có thiếu hụt CD55 và/hoặc CD59 ở các quần thể bạch cầu hạt và mono (CD55/CD59 bạch cầu dương tính >95%).

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Các tế bào bạch cầu nằm không đúng vùng tế bào trong cửa sổ chương trình chạy. Nguyên nhân có thể do thực hiện không đúng, lượng kháng thể ủ không đủ, thực hiện không đủ các bước của quy trình, ủ không đủ thời gian, hút pipet không tốt, tắc kim hút trên máy...

Xử trí: Làm lại xét nghiệm và tuân thủ theo đúng quy trình. Kiểm tra máy trước khi phân tích, phải rửa máy, đuổi bọt khí và thông kim hút (nếu cần) theo hướng dẫn đi theo máy.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Beckman Coulter. 2011. *IOTest CD45-PC5 Used manual*.
2. Beckman Coulter. 2011. *IOTest CD55-PE Used manual*.
3. Beckman Coulter. 2011. *IOTest CD59-FITC Used manual*.

**ĐIỆN DI HUYẾT SẮC TỐ**  
**TRÊN MÁY ĐIỆN DI MAO QUẢN**  
*(Hemoglobin analysis by capillary electrophoresis)*

## **I. NGUYÊN LÝ**

Trong môi trường pH kiềm, các phân tử huyết sắc tố (hemoglobine) tích điện âm sẽ di chuyển về cực dương dưới tác dụng của dòng điện 1 chiều. Quá trình điện di sẽ làm phân tách chúng thành các thành phần khác nhau dựa trên điện tích của chúng.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp nghi ngờ bệnh lý huyết sắc tố

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên và cử nhân được đào tạo thực hiện kỹ thuật;
- Bác sĩ: đọc kết quả, đánh giá, kiểm tra chất lượng.

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy điện di mao quản (ví dụ như máy Capillarys 2 hoặc máy Minicap của Sebia, Pháp);
- Giá để mẫu (đi theo máy);
- Máy ly tâm ống máu;
- Que thủy tinh.
- Găng tay, giấy thấm.

#### **2.2. Hóa chất**

- Dung dịch đệm (đi theo máy);
- Dung dịch rửa (đi theo máy);
- Nước cất, hoá chất khử trùng Natri hypoclorite.

### **3. Bệnh phẩm**

Là mẫu máu ngoại vi chống đông bằng EDTA.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 2ml máu toàn phần vào ống có chứa chất chống đông EDTA, ghi rõ thông tin người bệnh: tên, tuổi, số giường, khoa phòng, đúng với thông tin trên phiếu chỉ định.

- Mẫu máu dùng cho xét nghiệm có thể bảo quản 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C.

## **2. Khởi động máy điện di mao quản**

- Bật máy tính và máy máy điện di mao quản, chọn chương trình điều khiển máy điện di mao quản.

- Chọn chương trình điện di hemoglobin trong phần mềm.

- Đặt khay hóa chất điện di hemoglobin vào vị trí khay hóa chất trên máy điện di.

- Đổ dịch trong bình nước thải; Lắp các bình dung dịch rửa và bình dung dịch đệm vào vị trí khay dịch rửa và khay dung dịch đệm.

- Trong phần mềm điều khiển máy và phân tích mẫu, nhập thông tin bệnh nhân tương ứng với từng mẫu.

## **3. Chạy điện di**

- Đặt ống mẫu bệnh phẩm vào các vị trí trên giá nạp bệnh phẩm tương ứng với các vị trí phân tích đã quy định khi nhập thông tin bệnh nhân vào phần mềm.

- Bấm nút phân tích trong phần mềm để máy tự động phân tích ghi nhận kết quả chạy máy.

- Sau khi máy kết thúc phân tích, dùng phần mềm kiểm tra thông tin và kết quả tương ứng của từng bệnh nhân. Lựa chọn bệnh nhân cần in kết quả, bấm nút in để in kết quả của bệnh nhân đó.

## **4. Rửa máy**

- Thay thế bình dung dịch đệm bằng bình nước cất để rửa máy.

- Bấm nút rửa máy trên phần mềm để máy tự động rửa.

## **5. Tắt máy**

Sau khi kết thúc quy trình rửa máy, tiến hành tắt phần mềm điều khiển máy, tắt máy tính và tắt máy điện di mao quản.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Sau khi phân tích máy sẽ cho ra kết quả là các loại hemoglobin phân tích được và tỷ lệ % của các hemoglobin (Hb) này. Bình thường thành phần huyết sắc tố ở người trưởng thành có: HbA1 (> 96%), HbA2(<= 4%). Ở trẻ em dưới 1 tuổi có thêm HbF (<1%). Khi có rối loạn tổng hợp hemoglobin có thể thấy tăng,



giảm hoặc mất một vài thành phần huyết sắc tố bình thường; cũng có thể kết hợp với xuất hiện các thành phần huyết sắc tố mới (ví dụ HbH, HbE...).

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Sai sót về hóa chất: khay hóa chất bị khô hoặc có bọt khí.

Xử trí: phải kiểm tra kỹ hóa chất trước khi chạy máy, nếu hóa chất không đủ phải thay khay hóa chất khác, nếu hóa chất trong khay có bọt phải loại hết bọt khí mới được dùng.

- Sai sót do nhập vào máy không đúng thông tin về thứ tự bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích.

Xử trí: kiểm tra đối chiếu thông tin bệnh nhân và thứ tự mẫu phân tích trước khi chạy máy.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

SEBIA. 2006. **Capillarys 2 instruction manual** (Ref. 1222)

# **SỨC BỀN HỒNG CẦU**

## **(*Erythrocyte Osmotic Fragility test*)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Sức bền hồng cầu là sức chịu đựng của hồng cầu dưới tác dụng làm tan máu của các dung dịch muối khi hạ thấp dần nồng độ. Sức bền hồng cầu phụ thuộc vào tính thấm của màng hồng cầu.

Màng hồng cầu là màng bán thấm, do vậy khi cho hồng cầu vào dung dịch nhược trương, nước sẽ từ ngoài vào trong hồng cầu để cân bằng áp lực thẩm thấu, làm trương to hồng cầu. Dung dịch càng nhược trương nước sẽ vào càng nhiều và hồng cầu càng dễ vỡ. Lợi dụng tính chất đó người ta cho hồng cầu vào một loạt các dung dịch nhược trương có nồng độ khác nhau, ở pH = 7,4 để ở nhiệt độ phòng xét nghiệm. Sau một thời gian nhất định quan sát mức độ tan của hồng cầu để đánh giá tính bền vững của màng hồng cầu.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp nghi đến bệnh lý huyết sắc tố, bệnh thiếu máu tan máu.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên xét nghiệm đã được đào tạo.

#### **2. Phương tiện - Hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

- Máy ly tâm ống máu;
- Pipet và đầu pipet loại 25 $\mu$ l và 1000 $\mu$ l;
- Các ống nghiệm thủy tinh loại 5 ml;
- Nền trắng bằng giấy hoặc nhựa đục.
- Găng tay, giấy thấm.

##### **2.2. Hóa chất**

Dung dịch muối đệm với các nồng độ khác nhau. Cách pha như sau:

- Chuẩn bị dung dịch mẹ là một dung dịch đệm muối chloride có áp lực thẩm thấu tương đương với 100g/l (1,71 mol/l) NaCl như sau: hòa tan trong nước 90 gram NaCl; 13,65g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> và 2,34g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O và điều chỉnh thể tích về 1 lít. Dung dịch mẹ này dùng trong 1 tháng, bảo quản lạnh 4 độ C

(trong quá trình bảo quản lạnh có thể xuất hiện kết tinh thể trong lọ dung dịch. Khi đó phải để dung dịch mẹ ra nhiệt độ phòng và hòa tan tinh thể trước khi dùng).

- Từ dung dịch mẹ này trước hết pha loãng 10 lần với nước cất thành dung dịch 10‰ (10g/l), sau đó từ dung dịch này pha loãng thành các dung dịch muối ở các nồng độ thấp hơn: 7‰, 6‰, 5.5‰, 5.0‰, 4.75‰, 4.5‰, 4.25‰, 4.0‰, 3.75‰, 3.5‰, 3.25‰, 3‰, 2.75‰, 2.5‰, 2‰, 1‰.

- Nước cất, hoá chất khử trùng Natri hypochlorite.

### **3. Bệnh phẩm**

Là mẫu máu ngoại vi của các đối tượng người bệnh bị bệnh máu và có chỉ định của lâm sàng.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch, chống đông bằng Heparin (không nên dùng chất chống đông EDTA, Citrate hoặc Oxalate vì như vậy là cho thêm muối vào môi trường làm thay đổi áp lực thẩm thấu).

- Nếu bảo quản mẫu ở nhiệt độ phòng, cần làm xét nghiệm trong vòng 2 giờ kể từ khi lấy máu. Nếu bảo quản mẫu ở nhiệt độ 4 độ C, có thể làm xét nghiệm trong vòng 6 giờ kể từ khi lấy máu.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Lấy 16 ống nghiệm thủy tinh loại 5ml xếp vào giá, ghi tên tuổi người bệnh, đánh số thứ tự từ 1 đến 16.

- Cho lần lượt 3ml dung dịch nhược trương với các nồng độ lần lượt từ 1‰ đến 7‰ vào 16 ống.

- Đảo nhẹ nhàng ống máu vài lần để trộn kỹ máu trong ống. Nhỏ 100 µl máu đã trộn vào mỗi ống dung dịch nhược trương.

- Lấy bông không thấm nước bịt ống nghiệm, nhẹ nhàng đảo ống vài lần để trộn đều máu và dung dịch trong ống.

- Để các ống nghiệm thẳng đứng trên giá ở nhiệt độ phòng từ 1-2 giờ, sau đó đọc kết quả tan máu tại các ống.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Đọc kết quả**

- Bắt đầu tan: là nồng độ muối tại ống mà khi quan sát thấy phần dịch nổi ở ống đáy chuyển sang màu hồng, ở đáy ống nhìn thấy cục hồng cầu.

- Tan hoàn toàn: là nồng độ muối tại ống mà khi quan sát thấy phần dịch nổi ở ống đáy có màu đỏ trong suốt và không còn nhìn thấy cục hồng cầu ở đáy ống.

## 2. Nhận định kết quả

|                        |                                                     |
|------------------------|-----------------------------------------------------|
| Bình thường:           | Bắt đầu tan từ: 4,5-5‰;<br>Tan hoàn toàn từ: 3-3,5‰ |
| Sức bền hồng cầu tăng: | Bắt đầu tan từ: <4,5‰;<br>Tan hoàn toàn từ: <3‰     |
| Sức bền hồng cầu giảm: | Bắt đầu tan từ: >5‰;<br>Tan hoàn toàn từ >3,5‰      |

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Sai sót trong quá trình nhận định kết quả.

Xử trí: Kiểm tra cẩn thận, nếu cần thiết phải đọc màu dịch nổi trên nền giấy trắng.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dacie J. V., Lewis S. M. *Osmotic fragility, as measured by lysis in hypotonic saline*. In “Practical Haematology”. Longman, 1994; 8<sup>th</sup> Edition: 216-20.
2. Laboratory Network. *Haemophilia 2005*; 11:387-97.

**TIỀN MẮN CẢM**  
**BẢNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH GẮN MEN (ELISA)**  
*(Panel reactive antibody test by ELISA)*

**I. NGUYÊN LÝ**

Kháng thể kháng HLA có thể hình thành trong cơ thể người bệnh do đã được tiếp xúc với kháng nguyên trước.

Huyết thanh của người bệnh được ủ với một phiên phản ứng gồm nhiều giếng, các giếng đó được phủ các loại kháng nguyên hệ HLA khác nhau. Nếu có phản ứng kháng nguyên-kháng thể đặc hiệu xảy ra, kháng thể đó sẽ được phát hiện bằng hệ thống kháng thể thứ hai kháng IgG người vì hệ thống phát hiện bao gồm có cơ chất tạo màu và enzym xúc tác (theo nguyên lý ELISA). Nếu phản ứng tạo màu xảy ra ở giếng nào (có màu xuất hiện) thì chứng tỏ trong huyết thanh người bệnh có kháng thể đặc hiệu phản ứng với một hoặc một vài kháng nguyên có trong giếng đó. Xét nghiệm này thường được chỉ định để phát hiện kháng thể kháng HLA bất thường trước ghép, hoặc để kiểm tra đánh giá sự hình thành của kháng thể kháng HLA sau ghép.

**II. CHỈ ĐỊNH**

Các trường hợp chuẩn bị ghép đồng loại.

**III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

**IV. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên và cử nhân xét nghiệm được đào tạo thực hiện kỹ thuật;
- Bác sĩ: đọc kết quả, đánh giá, kiểm tra chất lượng.

**2. Phương tiện - Hóa chất**

**2.1. Phương tiện**

- Máy đọc ELISA vi giếng (đọc được phiên Terasaki);
- Bộ pipet man 10, 20, 200, và 1000 µl;
- Máy ly tâm ống máu;
- Que thủy tinh.
- Găng tay, giấy thấm.

**2.2. Hóa chất**

- Bộ kit tiền miễn cảm bao gồm:
- + Dung dịch rửa;

- + Dung dịch pha loãng mẫu;
- + Huyết thanh chứng dương;
- + Dung dịch cộng hợp;
- + Dung dịch cơ chất tạo màu;
- + Dung dịch ngưng phản ứng;
- + Phiến nhựa vi giếng có gắn sẵn các hỗn hợp kháng nguyên hệ HLA.

(thường hãng sản xuất cung cấp tài liệu dạng sơ đồ cho biết kháng nguyên trong có từng giếng).

- Nước cất, hoá chất khử trùng Natri hypoclorite.

### **3. Mẫu bệnh phẩm**

- Mẫu dùng là mẫu huyết thanh tách từ máu không chống đông.
- Mẫu cho xét nghiệm có thể bảo quản 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C. Muốn bảo quản lâu hơn, mẫu huyết thanh phải được giữ âm sâu ( $\leq -20^{\circ}\text{C}$ ).

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Chuẩn bị mẫu**

- Lấy 2ml máu ngoại vi vào ống nghiệm không chống đông, ghi rõ thông tin người bệnh: tên, tuổi, số giường, khoa phòng, đúng với thông tin trên phiếu chỉ định.
- Tách huyết thanh: để mẫu đông tự nhiên. Dùng que thủy tinh tách lớp huyết thanh đông khỏi thành ống.
- Ly tâm ống máu đông 2000 vòng/phút trong 3 phút, sẽ thu được lớp huyết thanh màu vàng nổi lên phía trên.
- Pha loãng huyết thanh người bệnh bằng dung dịch pha loãng mẫu theo hướng dẫn của nhà sản xuất kit.

### **2. Chuẩn bị hóa chất**

- Đưa hóa chất ra nhiệt độ phòng, pha dung dịch rửa, huyết thanh chứng, cộng hợp, và cơ chất tạo màu về nồng độ phản ứng theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

### **3. Tiến hành xét nghiệm**

- Đưa phiến phản ứng ra nhiệt độ phòng 15 phút.
- Nhỏ bệnh phẩm, dung dịch pha loãng kháng thể (giếng blank), và huyết thanh chứng vào các vị trí đã quy định trên phiến (theo hướng dẫn của nhà sản xuất).
- Ủ 1 giờ ở nhiệt độ phòng.

- Rửa 3 lần bằng dung dịch rửa, 20 uL/giếng, mỗi lần để 2 phút.
- Nhỏ 10 uL cộng hợp vào mỗi giếng, ủ 40 phút.
- Rửa 2 lần bằng dung dịch rửa, 20 uL/giếng, mỗi lần để 2 phút.
- Nhỏ 10 uL Substrate vào mỗi giếng, ủ 15 phút.
- Nhỏ 10 uL dung dịch ngưng phản ứng vào mỗi giếng. Đọc kết quả trên máy đo ELISA dùng cho phiên Terasaki, dùng phần mềm của hãng sản xuất kit. Kết quả được xuất dưới dạng các giếng âm tính và dương tính.

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Mẫu xét nghiệm được đọc kết quả như sau:
  - + Các giếng chứng dương xuất hiện màu rõ (thường là màu xanh lam).
  - + Các giếng chứng âm không bắt màu.
  - Nếu không đạt các yêu cầu trên thì xét nghiệm phải tiến hành lại.
  - Cách đọc kết quả: kết quả được đọc dưới dạng « âm tính » hoặc « % dương tính ». Cách tính toán như sau:

**% dương tính = (số giếng dương tính) / Tổng số giếng phản ứng cho 1 người bệnh.**

**Ghi chú:** Giếng dương tính: là giếng có phản ứng cho màu xanh lam. Tổng số giếng phản ứng: là tổng số giếng dùng cho 1 người bệnh đã loại đi các giếng dùng làm chứng âm, chứng dương và chứng blank.

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sai sót mẫu bệnh phẩm: tên bệnh nhân trên giấy xét nghiệm và trên ống mẫu không thống nhất, mẫu bị đông, mẫu không ghi giờ lấy.

Xử trí: yêu cầu nơi đưa mẫu xác minh lại các thông tin cần thiết, nếu mẫu bị đông hoặc đã để quá lâu thì phải lấy lại mẫu bệnh phẩm.

- Các mẫu chứng dương lại âm tính dương hoặc mẫu chứng âm lại dương tính. Thường do hóa chất hết hạn hoặc do chuẩn bị hóa chất sai.

Xử trí: kiểm tra hạn sử dụng của hóa chất, không dùng hóa chất hết hạn. Làm lại xét nghiệm và tuân thủ đúng các bước trong quy trình.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

One Lambda, 2010. *Lamda Antigen Tray Class I and Class II 88 antigen panel. User manual.*

# **XÉT NGHIỆM GEN BẰNG KỸ THUẬT FISH**

## **(Fluorescence *in situ* hybridization)**

### **GENE ANALYSIS BY FLUORESCENCE *IN SITU* HYBRIDIZATION**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật FISH được tiến hành dựa trên cơ sở của phản ứng lai ghép. Trong tế bào, phân tử ADN tồn tại dưới dạng phân tử kép gồm 2 chuỗi đơn gắn kết bổ sung với nhau thông qua liên kết hydro. Liên kết hydro là liên kết yếu nên dễ dàng bị đứt gãy dưới tác động của nhiệt độ hay pH cao. Lúc đó, phân tử ADN bị tách thành 2 chuỗi đơn. Tuy nhiên khi nhiệt độ hay pH giảm, các chuỗi đơn lại ghép nhau theo nguyên tắc bổ sung.

Dựa trên đặc tính này, kỹ thuật FISH sử dụng các probe là đoạn ADN đặc hiệu có gắn huỳnh quang để lai ghép với các đoạn ADN tương đồng trên nhiễm sắc thể. Từ đó, chúng ta có thể phát hiện bất thường nhiễm sắc thể một cách chính xác và nhanh chóng.

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này được chỉ định ở giai đoạn chẩn đoán bệnh hoặc giai đoạn theo dõi điều trị bệnh cho tất cả người bệnh mắc bệnh máu ác tính liên quan đến các bất thường nhiễm sắc thể đặc hiệu.

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm Di truyền - Sinh học phân tử đã được đào tạo.

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

###### **2.1. Phương tiện**

- Thiết bị: bể ổn nhiệt, máy lai, máy ly tâm, máy trộn mẫu, và kính hiển vi huỳnh quang;

- Dụng cụ: kẹp kim loại, 10 cốc Coplin, nhiệt kế, coverslip 22x22, pipetman 100 µl, 10 µl, xi măng cao su, ống đông, giấy thấm.

###### **2.2. Hóa chất**

- Probe phù hợp tương ứng với đoạn gen cần phát hiện;  
- Dung dịch 10% formamide: 5 ml formamide + 30 ml H<sub>2</sub>O + 15 ml 20X SSC;



- Dung dịch 2X SSC;
- Dung dịch rửa 0,1% NP40: 2X SSC + 0,1% NP40;
- Dung dịch rửa 0,3% NP-40: 0,4X SSC + 0,3% NP40;
- Cồn 70°, 85°, 100°.

### **3. Bệnh phẩm**

2ml máu ngoại vi hoặc dịch hút tủy xương được đựng trong bơm tiêm có tráng chất chống đông heparin 5.000 đơn vị/ml.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- 2ml máu ngoại vi hoặc dịch hút tủy xương được đựng trong bơm tiêm có tráng chất chống đông heparin 5.000 đơn vị/ml. Máu hoặc tủy xương được nuôi cấy trong 24 giờ.

- Sau 24 giờ, tiến hành thu hoạch huyền dịch tế bào.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị tiêu bản**

- Nếu sử dụng kỹ thuật FISH trên các cụm kỳ giữa (metaphase) thì cần nuôi cấy và chuẩn bị tiêu bản như kỹ thuật xét nghiệm công thức nhiễm sắc thể. Trong trường hợp sử dụng trên nhân tế bào thì có thể bỏ qua bước nuôi cấy.

- Nhỏ huyền dịch tế bào lên tiêu bản.

Yêu cầu: hình thái nhân rõ ràng, tế bào dàn đều, các cụm nhiễm sắc thể kỳ giữa to và bung đẹp.

- Dùng bút kim cương đánh dấu trên bề mặt tiêu bản những vùng đáp ứng được yêu cầu trên.

#### **2.2. Rửa tiêu bản**

- Ngâm tiêu bản vào dung dịch 2X SSC ở  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  trong 15 phút;
- Rửa tiêu bản qua cống chứa dung dịch 2X SSC ở nhiệt độ phòng trong 5 phút;
- Chuyển tiêu bản qua cống chứa dung dịch formaldehyde 10% ở nhiệt độ phòng trong 5 phút;
- Rửa tiêu bản qua cống chứa dung dịch 2X SSC ở nhiệt độ phòng trong 5 phút;
- Chuyển tiêu bản qua cống chứa cồn 70° trong 1 phút;
- Chuyển tiêu bản qua cống chứa cồn 85° trong 1 phút;
- Chuyển tiêu bản qua cống chứa cồn 100° trong 1 phút;

- Để tiêu bản khô hoàn toàn ở nhiệt độ phòng.

### 2.3. Chuẩn bị probe

- Trộn đều các dung dịch sau trong 1 ống PCR (1  $\mu$ l probe + 7  $\mu$ l LSI + 2  $\mu$ l dH<sub>2</sub>O) / 1 tiêu bản.
- Ly tâm nhẹ.

### 2.4. Lai

- Nhỏ 10  $\mu$ l dung dịch probe vào khu vực đánh dấu trên tiêu bản sau đó che phủ bằng coverslip.

Yêu cầu: dung dịch probe thấm đều trên tiêu bản, không có bọt khí.

- Phủ kín coverslip bằng cao su xi măng.
- Đặt tiêu bản vào máy lai, chọn chương trình biến tính ở 73°C trong 3 phút và ủ 37°C trong 16 - 20 giờ.

### 2.5. Rửa sau khi lai

- Gỡ bỏ xi măng cao su và coverslip;
- Ngâm và lắc mạnh tiêu bản lần lượt qua các cốc Coplin sau.
- + Dung dịch (0,4X SSC/ 0.3% NP40): 2 phút, 73°C;
- + Dung dịch (2X SSC/ 0,1% NP40): 1 phút, nhiệt độ phòng.
- Làm khô tiêu bản.

### 2.6. Chống mất màu probe

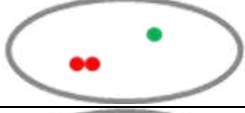
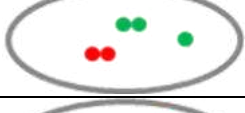
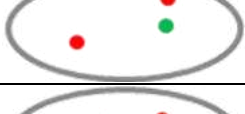
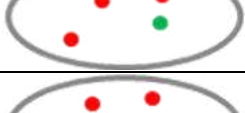
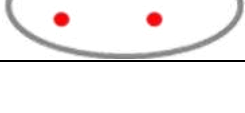
- Nhỏ 10-20  $\mu$ l dung dịch DAPI/antifade (1:20) lên bề mặt tiêu bản để chống mất màu probe và nhuộm nhân tế bào.
- Phủ kín tiêu bản bằng coverslip.

Yêu cầu: dung dịch dàn đều trên tiêu bản và không có bọt khí

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang, với kỹ thuật dual colour FISH, chúng ta sẽ thấy 3 màu.
- + Màu xanh da trời đậm: màu nhân tế bào
- + Màu xanh lá cây: màu của probe
- + Màu đỏ: màu của probe
- Nguyên tắc phân tích kết quả được liệt kê trong bảng sau

| Hướng dẫn đọc kết quả trong Dual colour FISH |                                                                                     |                                                |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 1                                            |  | Không đếm. Hai nhân tế bào xếp chồng lên nhau. |

|   |                                                                                    |                                                                                         |
|---|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| 2 |   | Một tín hiệu đỏ và một tín hiệu xanh. Tín hiệu đỏ bị khuếch tán.                        |
| 3 |   | Không đếm. Các nhân tế bào quá gần nhau, không xác định được ranh giới.                 |
| 4 |   | Một tín hiệu đỏ và một tín hiệu xanh. Tín hiệu đỏ bị phân hóa.                          |
| 5 |   | Một tín hiệu đỏ và hai tín hiệu xanh. Một tín hiệu xanh và một tín hiệu đỏ bị phân hóa. |
| 6 |   | Hai tín hiệu đỏ và một tín hiệu xanh.                                                   |
| 7 |   | Ba tín hiệu đỏ và một tín hiệu xanh.                                                    |
| 8 |  | Bốn tín hiệu đỏ.                                                                        |

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Vấn đề                              | Nguyên nhân                                  | Cách khắc phục                                                                                        |
|-------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Không có tín hiệu hoặc tín hiệu yếu | Kính hiển vi không thích hợp hoặc có sự cố   | Kiểm tra lại kính và các vật kính                                                                     |
|                                     | Probe không biến tính hoàn toàn              | Kiểm tra nhiệt độ bể ấm có đúng $(73 \pm 1)^{\circ}\text{C}$                                          |
|                                     | Điều kiện lai không thích hợp                | Kiểm tra nhiệt độ tủ ấm có đúng $37^{\circ}\text{C}$ hay không.<br>Tăng thời gian lai lên 1 giờ.      |
|                                     | Điều kiện rửa không thích hợp                | Kiểm tra nhiệt độ bể ấm có đúng $73^{\circ}\text{C}$<br>Kiểm tra các thành phần dung dịch rửa (pH...) |
|                                     | Xuất hiện bọt khí giữa tiêu bản và coverslip | Loại bỏ bọt khí                                                                                       |
|                                     | Bảo quản probe không đúng cách               | Bảo quản probe ở $-20^{\circ}\text{C}$ , không ánh sáng                                               |
| Tín hiệu                            | Điều kiện lai không thích hợp                | Kiểm tra nhiệt độ tủ ấm có đúng $37^{\circ}\text{C}$                                                  |

|                                                  |                                                               |                                                                                              |
|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| đặc trưng yếu                                    | Nhiệt độ dung dịch rửa quá thấp                               | Duy trì nhiệt độ dung dịch rửa ở $(73\pm 1)^{\circ}\text{C}$                                 |
| Nền quá bẩn                                      | Tiêu bản làm già quá mức cho phép hoặc chứa nhiều tế bào chết | Tăng thời gian biến tính của tiêu bản lên 10 phút                                            |
|                                                  | Tiêu bản không sạch hoặc nhiều mảnh vỡ tế bào trên tiêu bản   | Chuẩn bị lại tiêu bản                                                                        |
|                                                  | Các mảnh ADN không sạch                                       | Thực hiện lại bước rửa tiêu bản sau khi lai với formamide                                    |
|                                                  | Dung dịch rửa sai thành phần và nhiệt độ                      | Kiểm tra lại dung dịch rửa                                                                   |
| Hình thái các nhiễm sắc thể bị co cụm, biến dạng | Đề tiêu bản bị quá khô                                        | Tăng độ ẩm hoặc tăng nhiệt độ bể ươm trong quá trình tiến hành thí nghiệm                    |
|                                                  | Tiêu bản chưa được sấy khô trước khi biến tính                | Chuẩn bị lại xét nghiệm với tiêu bản mới<br>Làm già tiêu bản trước khi tiến hành FISH 24 giờ |
|                                                  | Tiêu bản chưa khô sau biến tính                               | Sấy tiêu bản ở nhiệt độ $45^{\circ}\text{C}$ trong 10-15 phút sau biến tính                  |
|                                                  | Nhiệt độ bể ươm quá cao                                       | Kiểm tra nhiệt độ bể ươm có đúng $(73\pm 1)^{\circ}\text{C}$                                 |
|                                                  | Thời gian biến tính quá lâu                                   | Giảm thời gian biến tính 1 phút                                                              |
| Tín hiệu quá mạnh                                | Nồng độ probe sử dụng quá cao so với dải màu của KHV          | Cố gắng chỉnh kính thay thế bằng các dải màu trung lập                                       |

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu hướng dẫn sử dụng của công ty Vysis.
2. Lynda J. Cambell, ( 2011), “Cancer cytogenetic”, Human Press.

# NHUỘM BĂNG G NHIỄM SẮC THỂ

## G-BAND STAINING

### I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật nhuộm băng G được sử dụng để nhuộm nhiễm sắc thể ở kỳ giữa. Nhiễm sắc thể (nhiễm sắc thể) ở kỳ giữa được xử lý bằng enzym phân giải protein và được nhuộm với Giemsa. Băng tối là đoạn ADN giàu A, T (ngược lại với băng R), băng sáng là những đoạn giàu G, C. Phương pháp được sử dụng để nhận dạng các nhiễm sắc thể và phát hiện bất thường nhiễm sắc thể, dựa vào đặc điểm các băng sáng tối trên mỗi nhiễm sắc thể.

### II. CHỈ ĐỊNH

Kỹ thuật này được sử dụng trong xét nghiệm công thức nhiễm sắc thể máu ngoại vi/tủy xương được để nhận diện bất thường nhiễm sắc thể..

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên xét nghiệm di truyền đã được đào tạo.

#### 2. Phương tiện - Hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- 02 cối Coplin jar;
- 03 cốc thủy tinh 100ml;
- 01 cặp không mẫu.

##### 2.2. Hóa chất

- Enzym phân giải protein (trypsin);
- Đệm pH 6,8 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 9,1g/l; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O: 11,5g/l);
- Chất ức chế enzym (huyết thanh bào thai bê - FBS);
- Nước muối 9‰.

#### 3. Bệnh phẩm

Tiêu bản nhiễm sắc thể kì giữa đã được sấy khô (theo quy trình “ Xét nghiệm công thức Nhiễm sắc thể”).

### V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Chuẩn bị

##### 1.1. Chuẩn bị tiêu bản

Tiêu bản sau khi thu hoạch được cho vào tủ sấy 50-60°C 24 giờ, hoặc để khô tự nhiên 3 ngày trở lên.

### 1.2. Chuẩn bị hóa chất

- Cốc 1: Pha 0.05g trypsin bột vào 50ml nước muối 0.9‰;
- Cốc 2: Pha 100ml FBS 2%;
- Cốc 3: Nước muối 9‰;
- Cốc 4: Nước muối 9‰;
- Cốc 5: Pha Giêmsa 10% trong đệm pH 6,8;
- Cốc 6: Đệm pH 6,8.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng tiêu bản trong cốc 1 từ 1-2 phút;
- Chuyển sang cốc 2/30 giây;
- Chuyển sang cốc 3/15 giây;
- Chuyển sang cốc 4/15 giây;
- Chuyển sang cốc 5 /10 phút;
- Chuyển sang cốc 6 /15 giây;
- Rửa dưới vòi nước chảy

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Tiêu bản sau khi nhuộm bằng G được phân tích bất thường về số lượng, cấu trúc trên kính hiển vi ở độ phóng đại 1.000 lần và được phân tích bằng phần mềm chuyên dụng.

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Vấn đề                                                                  | Nguyên nhân                                                                   | Xử trí                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Băng không cắt (Không hình thành các băng nhạt)                         | Đề thời gian cắt của enzym không đủ.                                          | Đề thêm thời gian cắt của enzym.                                                            |
| Băng bị cắt quá (nhiễm sắc thể quá nhạt màu, không rõ các băng đậm màu) | Đề thời gian cắt của enzym dài quá, dung dịch pha enzym phân giải không đúng. | Điều chỉnh lại thời gian cắt của enzym cho hợp lý.<br>Pha lại enzym nếu nhầm dung dịch đệm. |

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Margaret J. Barch, ( 1991 ), “The ACT Cytogenetics Laboratory Manual”, Raven press.

2. Phạm Quang Vinh, Đỗ Trung Phần, (2009), “Các kỹ thuật nhuộm nhiễm sắc thể”, “Kỹ thuật huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng”, Nhà xuất bản Y học, pp110-119.

# **CÔNG THỨC NHIỄM SẮC THỂ TỦY**

## **KARYOTYPING ANALYSIS OF BONE MARROW SAMPLE**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Tế bào tủy là những tế bào non có khả năng phân bào. Do đó người ta có thể sử dụng thu hoạch trực tiếp hoặc nuôi cấy trong môi trường nhân tạo mà không cần chất kích thích non hóa. Sau đó dùng chất ức chế phân bào ức chế tế bào ở kỳ giữa của quá trình phân bào lúc này nhiễm sắc thể có hình dạng điển hình nhất, thu hoạch rồi chuẩn bị tiêu bản phân tích cụm nhiễm sắc thể.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này được chỉ định cho tất cả người bệnh mắc bệnh máu ác tính.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm di truyền đã được đào tạo làm kỹ thuật.

#### **2. Phương tiện - Hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

- Ống falcon 50 ml vô trùng;
- Chai nuôi cấy vô trùng;
- Bộ dụng cụ đếm bạch cầu;
- Lam kính;
- Giá đỡ lam;
- Ống falcon 15 ml;
- Ống nghiệm thủy tinh;
- Pipet Pasteur;
- Ống eppendorf;
- Ống chứa chất chống đông heparin sodium 5ml.

##### **2.2. Hóa chất**

- Môi trường nuôi cấy tế bào (RPMI 1640 có L-glutamin, Hepes);
- Huyết thanh bào thai bê (FBS);
- Dung dịch ức chế phân bào (Colcemide 0,01 % (10 $\mu$ g/ml));
- Dung dịch nhược trương (KCL 0,075M (pH=7,4));



- Dung dịch đếm bạch cầu;
- Methanol tuyệt đối;
- Acid acetic;
- Kháng sinh (Streptomycin 10mg/ml + Penecilin 10,000UI/ml).

### **3. Bệnh phẩm**

2ml tủy được chứa trong ống có chất chống đông heparin sodium.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1.1. Nuôi cấy**

#### **1.1. Chuẩn bị môi trường nuôi cấy:**

Cho 45ml môi trường nuôi cấy vào ống falcol 50ml, cho thêm 5ml huyết thanh bào thai bê và 500µl kháng sinh, sau đó trộn đều.

#### **1.2. Đếm số lượng tế bào**

- Ly tâm 1.000 vòng/phút trong 8 phút lấy lớp buffy coat cho vào 3ml môi trường trộn đều và đếm số lượng tế bào tủy trong hỗn dịch.

- Tính toán số lượng tế bào cho vào mỗi chai nuôi cấy sao cho số lượng tế bào đạt từ  $1 - 4 \times 10^6$  tế bào/ml môi trường nuôi cấy.

#### **1.3. Chuẩn bị chai nuôi cấy**

- Mỗi chai nuôi cấy ghi thông tin người bệnh, ngày cấy, ngày thu hoạch.
- Trong mỗi chai nuôi cấy cho 10ml môi trường nuôi cấy.

#### **1.4. Nuôi cấy tế bào**

Nhỏ lượng tế bào như tính toán vào chai nuôi cấy đã chuẩn bị. Lắc nhẹ cho mẫu tan vào môi trường, nới lỏng nắp, đặt nằm trong tủ ẩm  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  / 24 giờ.

## **2. Thu hoạch**

2.1. Nhỏ colcemide: Sau 24 giờ cho vào mỗi chai nuôi cấy 50 µl dung dịch colcemide  $0.01^{0}/_{00}$  (10µg/ml), đặt lại trong tủ ẩm trong 15 phút.

#### **2.2. Chuẩn bị hóa chất, dụng cụ:**

- Bật tủ ẩm  $37^{\circ}\text{C}$ , làm ấm dung dịch KCL 0,075M (Số lượng đủ 8ml/mẫu)
- Chuẩn bị dung dịch carnoy theo tỷ lệ: 3 methanol : 1 acid acetic
- Chuẩn bị ống falcon 15ml, ống nghiệm thủy tinh, pipet thủy tinh theo số lượng ống cấy.

2.3. Chuyển toàn bộ huyền dịch ở chai nuôi cấy vào ống falcon 15ml, ly tâm ở máy ly tâm ngang 1.000 vòng/phút trong 8 phút.

2.4. Sau khi ly tâm hút bỏ phần dịch nổi ở trên, để lại cặn tế bào (chỉ hút đến cách mặt trên cặn tế bào khoảng 5 mm).

2.5. Cho thêm 8ml dung dịch nhuộm trương đã để ấm 37°C vào ống ly tâm, trộn nhẹ một vài lần rồi ủ ở bể ấm 37°C trong 18 phút.

2.6. Sau khi ủ 18 phút cho thêm vào mỗi ống 0.5-1 ml dung dịch carnoy, trộn nhẹ để 5-10 phút.

2.7. Lấy ống ra ly tâm lấy cặn, hút bỏ dịch nổi phía trên. Cho thêm vào mỗi ống 10ml dung dịch carnoy trộn đều để ở nhiệt độ phòng trong 10 phút.

2.8. Lặp lại bước 7 đến khi cặn tế bào trắng. Tái huyền dịch bằng carnoy.

### **3. Nhỏ tiêu bản**

- Các lam kính sạch rửa sạch ngâm qua nước cất, ngâm lại vào cồn tuyệt đối, chuyển sang ngâm nước cất để lên giá lam cho khô.

- Đặt giá lam vào ngăn đá tủ lạnh khoảng 10 phút, sau đó lấy ra để nghiêng 20 - 30° trên giấy thấm.

- Nhỏ một giọt huyền dịch vừa pha lên lam kính. Chú ý khi nhỏ tiêu bản để đầu pipet cao hơn mặt lam kính từ 10-20 cm.

- Để tiêu bản khô tự nhiên trước khi nhuộm.

*Lưu ý: Trong trường hợp còn huyền dịch thì lưu vào ống eppendorf để nhỏ thêm tiêu bản khi cần.*

### **4. Nhuộm Giêmsa**

- Pha Giêmsa 10% từ Giêmsa mẹ;

- Nhuộm tiêu bản 5-10 phút;

- Rửa dưới vòi nước;

- Sấy khô trong tủ sấy 60°C.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

1. Tiêu bản sau khi nhuộm Giêmsa và băng G, số lượng và cấu trúc của các cặp nhiễm sắc thể sẽ được khảo sát trên kính hiển vi ở độ phóng đại 1.000 lần và được phân tích bằng phần mềm chuyên dụng.

2. Một số quy tắc trong khi phân tích:

- Thừa nhiễm sắc thể: có từ 2 cụm kỳ giữa trở lên thừa cùng 1 nhiễm sắc thể.

- Thiếu nhiễm sắc thể: có từ 3 cụm kỳ giữa trở lên thiếu cùng 1 nhiễm sắc thể.

- Bất thường cấu trúc: có từ 2 cụm trở lên mang cùng 1 bất thường.

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Vấn đề                                     | Nguyên nhân                                                                                                                                | Xử trí                                                                                                                                                                                      |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Không có cụm kỳ giữa (cụm mitose), ít cụm. | Nồng độ chất chống đông không đúng.                                                                                                        | Kiểm tra lại nồng độ chất chống đông.                                                                                                                                                       |
|                                            | Lấy sai chất chống đông, cho mẫu vào dung dịch chống đông: lithium heparin, EDTA, phenol-heparin, natri citrat...                          | Yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể. Nếu không thể lấy lại mẫu có thể rửa lại tế bào bằng môi trường nuôi cấy trước khi nuôi cấy.                                                                |
|                                            | Chuyển mẫu và bảo quản mẫu                                                                                                                 | Kiểm tra một số vấn đề: thời gian từ khi lấy mẫu tới khi nhận mẫu, nhiệt độ, áp suất, pH môi trường dùng lưu mẫu khi vận chuyển mẫu.                                                        |
|                                            | Nhiệt độ, CO <sub>2</sub> trong tủ nuôi cấy không đúng, quá cao hoặc quá thấp.                                                             | Kiểm tra lại nhiệt độ, CO <sub>2</sub> trong tủ ấm, nếu không đảm bảo phải mời kỹ sư điều chỉnh lại.                                                                                        |
|                                            | Môi trường nuôi cấy không đầy đủ (L-glutamin không còn hoạt tính, giảm hoạt tính)                                                          | Thêm L-glutamin mới.                                                                                                                                                                        |
|                                            | Huyết thanh không phù hợp (huyết thanh không hỗ trợ được cho sự phát triển của tế bào (huyết thanh mất hoạt tính) hoặc gây độc cho tế bào) | Sử dụng lô huyết thanh khác, hoặc ống huyết thanh mới (các ống huyết thanh được tách ra từ chai to), loại huyết thanh khác (huyết thanh bào thai bê, huyết thanh bò, huyết thanh AB người). |
| Màng tế bào không vỡ ra được               | Sử dụng đồ thủy tinh (pipet thủy tinh, pipet Pasteur), đồ nhựa bị lỗi(chai nuôi cấy, đĩa petri)...                                         | Thử thay đổi sang loại pipet mới, chai nuôi cấy, đĩa petri mới.                                                                                                                             |
|                                            | Thời gian nhuộm tương không đủ, sai về nồng độ nhuộm tương.                                                                                | Rửa lại cặn tế bào bằng dung dịch carnoy tỷ lệ 2:1.                                                                                                                                         |

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Margaret J. Barch, ( 1991 ), “The ACT Cytogenetics Laboratory Manual”, Raven press.
2. Phạm Quang Vinh, Đỗ Trung Phần, (2009), “Cấy máu ngoại vi phân tích nhiễm sắc thể”, “Kỹ thuật huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng”, Nhà xuất bản Y học, pp103-110.

# **CÔNG THỨC NHIỄM SẮC THỂ MÁU NGOẠI VI**

## **KARYOTYPING ANALYSIS OF PERIPHERAL BLOOD SAMPLE**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Các tế bào lympho máu ngoại vi khi tiếp xúc với chất gây phân bào có khả năng chuyển dạng thành tế bào non và phân chia. Lợi dụng khả năng đó, người ta nuôi cấy máu ngoại vi trong môi trường có chất kích thích phân bào và sau đó làm ngừng phân bào ở kỳ giữa, giai đoạn có hình dạng nhiễm sắc thể (nhiễm sắc thể) điển hình, để làm tiêu bản quan sát nhiễm sắc thể. Phân tích nhiễm sắc thể tế bào máu ngoại vi cho phép chẩn đoán các hội chứng di truyền do bất thường nhiễm sắc thể, xác định nhiễm sắc thể giới của cá thể.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này được cho tất cả người bệnh mắc bệnh máu ác tính hoặc nghi ngờ mắc bệnh lý di truyền bẩm sinh.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm di truyền đã được đào tạo làm kỹ thuật.

#### **2. Phương tiện - hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

- Ống falcon 50 ml vô trùng;
- Chai nuôi cấy vô trùng;
- Lam kính;
- Giá để lam;
- Ống falcon 15 ml;
- Ống nghiệm thủy tinh;
- Pipet Pasteur;
- Ống eppendorf;
- Ống chứa chất chống đông heparin sodium 5ml.

##### **2.2. Hóa chất**

- Môi trường nuôi cấy tế bào (RPMI 1640 có L-glutamin, HEPES);
- Huyết thanh bào thai bê (FBS);
- PHA (phytohemagglutinin);

- Kháng sinh: streptomycin 10mg/ml + penicilin 10.000UI/ml;
- Dung dịch colcemide 0,01‰ (10µg/ml);
- Dung dịch nhuộm tương: KCL 0,075M (pH=7,4);
- Dung dịch đệm bạch cầu;
- Methanol tuyệt đối;
- Acid acetic.

### **3. Bệnh phẩm**

2ml máu ngoại vi được chứa trong ống có chất chống đông heparin sodium.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Nuôi cấy**

#### **1.1. Chuẩn bị môi trường nuôi cấy:**

Cho 45ml môi trường nuôi cấy vào ống falcon 50ml, cho thêm 5ml huyết thanh bào thai bê và 500µl kháng sinh trộn kỹ.

#### **1.2. Chuẩn bị chai nuôi cấy**

- Mỗi chai nuôi cấy ghi thông tin người bệnh, ngày cấy, ngày thu hoạch;
- Trong mỗi chai nuôi cấy cho 10ml môi trường nuôi cấy.

#### **1.3. Nuôi cấy tế bào**

Cho 1ml máu ngoại vi, 200µl PHA vào chai nuôi cấy. Lắc nhẹ cho mẫu được trộn đều vào môi trường, nói lỏng nắp, đặt nằm trong tủ ấm 37°C, 5%CO<sub>2</sub> trong 72 giờ.

### **2. Thu hoạch**

2.1. Nhỏ colcemide: Sau 72 giờ, cho vào mỗi chai nuôi cấy 50 µl dung dịch colcemide 0,01‰ (10µg/ml), đặt lại chai nuôi cấy vào tủ ấm trong 50 phút.

#### **2.2. Chuẩn bị hóa chất, dụng cụ:**

- Bật tủ ấm 37°C, làm ấm chai dung dịch KCL 0,075M (Số lượng đủ 8ml cho một chai nuôi cấy).
- Chuẩn bị dung dịch carnoy theo tỷ lệ: 3 methanol: 1 acid acetic.
- Chuẩn bị ống falcon 15ml, ống nghiệm thủy tinh, pipet thủy tinh theo số lượng ống cấy.

2.3. Sau đó chuyển toàn bộ huyền dịch ở chai nuôi cấy vào ống falcon 15ml, ly tâm ở máy ly tâm ngang 1.000 vòng/phút trong 8 phút.

2.4. Sau khi ly tâm hút bỏ phần dịch nổi ở trên, để lại cặn tế bào (chỉ hút đến cách mặt trên cặn tế bào khoảng 5 mm).

2.5. Cho thêm vào ống ly tâm 8ml dung dịch nhuộm trương đã để ấm 37°C trước, trộn nhẹ một vài lần rồi ủ ở bể ấm 37°C trong 30 phút.

2.6. Sau khi ủ 30 phút cho thêm vào mỗi ống 0.5-1 ml dung dịch carnoy, trộn nhẹ để 5-10 phút.

2.7. Lấy ống ra ly tâm lấy cạn, hút bỏ dung dịch nổi phía trên cho thêm vào mỗi ống 10ml dung dịch carnoy trộn đều để ở nhiệt độ phòng trong 10 phút

2.8. Lặp lại bước 7 đến khi cạn trắng. Tái huyền dịch bằng dung dịch carnoy.

### 3. Nhỏ tiêu bản

- Các lam kính sạch rửa sạch ngâm qua nước cất, ngâm lại vào cồn tuyệt đối, chuyển sang ngâm nước cất để lên giá lam cho khô;

- Đặt giá lam vào ngăn đá tủ lạnh khoảng 10 phút, sau đó lấy ra để nghiêng 20 - 30° trên giấy thấm;

- Nhỏ một giọt huyền dịch lên lam kính. Chú ý khi nhỏ tiêu bản để đầu pipet cao hơn mặt lam kính từ 10-20 cm;

- Để tiêu bản khô tự nhiên.

*Lưu ý: Trong trường hợp còn huyền dịch thì lưu vào ống eppendorf để nhỏ lại lam khi cần.*

### 4. Nhuộm Giêmsa

- Pha Giêmsa 10% từ Giêmsa mẹ nhuộm lam 5-10 phút;

- Rửa dưới vòi nước;

- Sấy khô trong tủ sấy 60°C.

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Tiêu bản sau khi nhuộm Giêmsa và nhuộm băng G, số lượng và cấu trúc của các cặp nhiễm sắc thể sẽ được khảo sát trên kính hiển vi ở độ phóng đại 1.000 lần và được phân tích bằng phần mềm chuyên dụng.

2. Một số quy tắc trong khi phân tích:

- Thừa nhiễm sắc thể: có từ 2 cụm phân bào trở lên thừa cùng 1 nhiễm sắc thể.

- Thiếu nhiễm sắc thể: có từ 3 cụm phân bào trở lên thiếu cùng 1 nhiễm sắc thể.

- Bất thường cấu trúc: có từ 2 cụm trở lên mang cùng 1 bất thường.

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Vấn đề | Nguyên nhân                   | Xử trí                                |
|--------|-------------------------------|---------------------------------------|
|        | Nồng độ chất chống đông không | Kiểm tra lại nồng độ chất chống đông. |

|                                            |                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                             |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Không có cụm kỳ giữa (cụm mitose), ít cụm. | đúng.                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                             |
|                                            | Lấy sai chất chống đông, cho mẫu vào dung dịch chống đông: lithium heparin, EDTA, phenol-heparin, natri citrat...                          | Yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.<br>Nếu không thể lấy lại mẫu có thể rửa lại tế bào bằng môi trường nuôi cấy trước khi nuôi cấy.                                                             |
|                                            | Chuyển mẫu và bảo quản mẫu                                                                                                                 | Kiểm tra một số vấn đề: thời gian từ khi lấy mẫu tới khi nhận mẫu, nhiệt độ, áp suất, pH môi trường dùng lưu mẫu khi vận chuyển mẫu.                                                        |
|                                            | Nhiệt độ, CO <sub>2</sub> trong tủ nuôi cấy không đúng, quá cao hoặc quá thấp.                                                             | Kiểm tra lại nhiệt độ, CO <sub>2</sub> trong tủ ấm, nếu không đảm bảo phải mời kỹ sư điều chỉnh lại.                                                                                        |
|                                            | Môi trường nuôi cấy không đầy đủ (L-glutamin không còn hoạt tính, giảm hoạt tính)                                                          | Thêm L-glutamin mới.                                                                                                                                                                        |
|                                            | Huyết thanh không phù hợp (huyết thanh không hỗ trợ được cho sự phát triển của tế bào (huyết thanh mất hoạt tính) hoặc gây độc cho tế bào) | Sử dụng lô huyết thanh khác, hoặc ống huyết thanh mới (các ống huyết thanh được tách ra từ chai to), loại huyết thanh khác (huyết thanh bào thai bê, huyết thanh bò, huyết thanh AB người). |
|                                            | Sử dụng đồ thủy tinh (pipet thủy tinh, pipet Pasteur), đồ nhựa bị lỗi(chai nuôi cấy, đĩa petri)...                                         | Thử thay đổi sang loại pipet mới, chai nuôi cấy, đĩa petri mới.                                                                                                                             |
| Màng tế bào không vỡ ra được               | Thời gian nhuộm trương không đủ, sai về nồng độ nhuộm trương.                                                                              | Rửa lại căn tế bào bằng dung dịch carnoy tỷ lệ 2:1.                                                                                                                                         |

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Margaret J. Barch, ( 1991 ), “The ACT Cytogenetics Laboratory Manual”, Raven press.
2. Phạm Quang Vinh, Đỗ Trung Phần, (2009), “Kỹ thuật huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng”, pp103-110, Nhà xuất bản Y học.



# **CÂY HỖN HỢP TẾ BÀO LYMPHO**

## **MIXED LYMPHOCYTE CULTURE**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Khi nuôi cấy tế bào lympho nếu trong môi trường có kháng nguyên lạ, tế bào lympho sẽ non hóa và nhân lên. Cây hỗn hợp là đưa tế bào lympho của người cho đã bất hoạt bằng mitomicin C hoặc chiếu xạ cho tiếp xúc với tế bào lympho của người nhận. Nếu tế bào lympho của người nhận miễn cảm hoặc phản ứng với kháng nguyên trên tế bào lympho của người cho càng mạnh thì số lượng tế bào lympho của người nhận non hóa và nhân lên càng nhiều. Tế bào nhân lên sử dụng các bazơ nitơ tự do để tổng hợp ADN. Do đó, có thể ước lượng được mức độ phản ứng bằng cách cho thêm [ $^3\text{H}$ ] thymidine (là một loại bazơ nitơ có gắn đồng vị phóng xạ) vào môi trường nuôi cấy để phân tích lượng chất đồng vị phóng xạ dùng để đánh dấu này được sử dụng khi tế bào lympho của người nhận nhân lên.

Cây hỗn hợp lympho chủ yếu sử dụng trong việc đánh giá mức độ hòa hợp kháng nguyên của người cho và người nhận trước khi ghép tạng. Ngoài ra, nó có thể được sử dụng để nghiên cứu các đáp ứng miễn dịch ở mức độ tế bào.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này được chỉ định trong trường hợp cần đánh giá mức độ hòa hợp kháng nguyên của người cho và người nhận trước khi ghép tạng.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm đã được đào tạo kỹ thuật XN miễn dịch – di truyền.

#### **2. Phương tiện - Hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

- Thiết bị: tủ ấm CO<sub>2</sub>, máy ly tâm lạnh, máy đếm phóng xạ nhấp nháy lỏng, kính hiển vi đảo ngược, pipet man.

- Dụng cụ: Ống nghiệm vô trùng, đĩa nuôi cấy 96 giếng 0,2 ml, bơm kim tiêm, đầu côn lọc.

##### **2.2. Hóa chất**

- Môi trường RF10-M: 100 ml bao gồm:
  - + 86 ml môi trường RPMI.
  - + 10 ml huyết thanh bào thai bê.
  - + 0.1 ml 2 – mercaptoethanol nồng độ  $5 \times 10^{-2}$  M.
  - + 1 ml kháng sinh streptomycin 10mg/ml + penicilin 10,000UI/ml.
  - + 1 ml L-glutamin 200 mM.
  - + 2 ml Hepes buffer 1 M.
- [ $^3\text{H}$ ] thymidine.
- Lymphoprep.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

04 ml máu toàn phần của người bệnh cần ghép và người cho chống đông bằng heparin 5.000 đơn vị/ml.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Tách tế bào lympho:
  - + Chuẩn bị 2 ống nghiệm vô trùng có 2ml lymphoprep.
  - + Cho 4 ml máu ngoại vi của người cho và người nhận vào 2 ống nghiệm trên.
  - + Ly tâm tốc độ 2500 vòng/phút trong 15 phút để tách tế bào lympho.
  - + Hút cẩn thận toàn bộ lớp tế bào đơn nhân ở giữa và cho vào 2 ống nghiệm vô trùng.
  - Tái huyền dịch tế bào lympho vào môi trường RF10-M.
  - Cho thêm 100  $\mu\text{l}$  mitomycin C nồng độ 50  $\mu\text{g/ml}$  vào ống nghiệm chứa tế bào lympho của người cho trong 20 phút để bất hoạt tế bào lympho.
  - Cho thêm 2 ml RF10-M vào ống nghiệm đã được xử lý với mitomycin C. Ly tâm tốc độ 1.000 vòng/ 10 phút và bỏ dịch nổi. Lặp lại bước rửa này 03 lần.
  - Cho 100  $\mu\text{l}$  huyền dịch tế bào lympho của người nhận có nồng độ tế bào  $2 \times 10^5$  /ml vào giếng của phiến nuôi cấy 96 giếng (cho vào 3 giếng).
  - Cho tiếp 100  $\mu\text{l}$  huyền dịch tế bào lympho đã bất hoạt của người cho có nồng độ tế bào  $5 \times 10^6$  (cả 3 giếng nêu trên).
  - Cho 200  $\mu\text{l}$  huyền dịch tế bào lympho của người nhận có nồng độ tế bào  $2 \times 10^5$  /ml vào giếng thứ 4 của phiến nuôi cấy 96 giếng làm chứng âm.
  - Đặt phiến nuôi cấy vào tủ ấm  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  trong 78 giờ.

- Cho 1  $\mu\text{Ci}$  [ $^3\text{H}$ ] Thymidine vào mỗi giếng (cả 4 giếng nêu trên), đặt phiên nuôi cấy vào tủ ấm  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  trong 18 giờ.

- Thu hoạch tế bào và đọc kết quả trên máy đếm nhấp nháy lỏng theo cơ chế đơn vị đếm được tính theo đơn vị phóng xạ (cpm).

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Sử dụng phần mềm phân tích kết quả đối chiếu giữa các giếng chứng và giếng thực nghiệm.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Không đảm bảo vô trùng: Cần thao tác và chuẩn bị dụng cụ, môi trường vô khuẩn, khử khuẩn khu vực thực hiện ít nhất 15 phút trước khi thực hiện kỹ thuật.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Greg A. Perry, (1976), “ Mixed Lymphocyte culture”, Creighton university.
2. John E. Coligan, Ada M. Kruisbeek, David H Margulies, Ethan M. Shevach, Warren Strober, (1991), Current protocols in immunology, John Wiley & Son Press.

**PHÁT HIỆN NGƯỜI MANG GEN HEMOPHILIA**  
**(bằng kỹ thuật PCR-RFLP)**  
**DETECTION OF HEMOPHILIA CARRIER BY PCR-RFLP**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Tính đa hình (polymorphism) của một số đoạn gen là hiện tượng khác nhau một hoặc một nhóm nucleotid ở một vị trí nhất định trên gen nhưng không làm thay đổi hoạt động của gen. Các đa hình này thường nằm trong trình tự nhận biết của một hoặc một số enzym giới hạn và có thể được phát hiện khi sử dụng kỹ thuật PCR-RFLP. Xác định đa hình đặc trưng ở người bệnh hemophilia, sau đó sử dụng đa hình này để tìm kiếm cá thể mang gen trong gia đình dựa trên nguyên tắc các gen nằm gần nhau thì di truyền cùng nhau. Đầu tiên, sử dụng kỹ thuật PCR để nhân bản đoạn gen quan tâm có chứa gen đa hình, sau đó cắt sản phẩm PCR này với một enzym giới hạn đặc hiệu với vị trí đa hình. Quan sát các sản phẩm cắt, sẽ nhận dạng được gen.

Yêu cầu để thực hiện kỹ thuật:

- + Phải biết người mẹ là người chắc chắn mang gen hemophilia (carrier) và cần phải xét nghiệm đặc tính đa hình của gen ở người mẹ, người mẹ phải là người dị hợp tử với đặc tính đa hình.

- + Phải xét nghiệm đặc tính đa hình của bố và của người bệnh hemophilia (là anh trai hoặc em trai của người cần phát hiện hoặc người bệnh là một người nam giới liên quan khác như bác ruột về phía mẹ).

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này được chỉ định cho tất cả những người phụ nữ trong gia đình có tiền sử mắc bệnh Hemophilia mà có nhu cầu xác định tình trạng mang gen.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm sinh học phân tử đã được đào tạo.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

## **2.1. Phương tiện**

- Máy PCR;
- Hệ thống máy điện di, hệ thống đèn cực tím soi gel, hệ thống máy chụp ảnh;
- Buồng vô trùng (biology cabinet);
- Máy ly tâm tốc độ cao (tốc độ tối đa 14.000 vòng/phút);
- Máy vortex;
- Các loại pipet 10  $\mu$ l, 20  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 200  $\mu$ l, 1000  $\mu$ l;
- Đầu côn có màng lọc;
- Ống eppendorf 1,5 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Ống PCR 0,2 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Tủ lạnh 4-8°C, tủ âm sâu -20°C;
- Găng tay.

## **2.2 Hóa chất**

- Sử dụng kit tách ADN thương mại. Nếu tách thủ công thì sử dụng các sinh phẩm cần thiết để tách chiết ADN như proteinase K, đệm ly giải tế bào, phenol/chloroform, cồn tuyệt đối.
- Hóa chất chạy PCR gồm: Đệm,  $MgCl_2$ , dNTPs, enzym kéo dài chuỗi, nước khử ion vô trùng, các cặp mồi đặc hiệu.
- Hóa chất điện di: thạch agarose, đệm tra mẫu, thang chuẩn ADN, thuốc nhuộm ethidium bromide.

## **3. Bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi (của mỗi thành viên) đựng trong ống chống đông EDTA.

## **4. Phiếu xét nghiệm**

Có đầy đủ các thông tin cần thiết về người bệnh, về chẩn đoán và yêu cầu xét nghiệm.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi (của mỗi thành viên) đựng trong ống chống đông EDTA.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **Bước 1: Tách chiết ADN**

Xem bài “ Tách chiết ADN từ máu ngoại vi”.

## **Bước 2: PCR**

- Thực hiện phản ứng PCR với sự tham gia của các thành phần sau:

|                       |                   |
|-----------------------|-------------------|
| PCR buffer 10X        | 5 µl              |
| ADN                   | 100 ng            |
| Forward primer (10pM) | 1 µl              |
| Reverse primer (10pM) | 1 µl              |
| Taq-polymerase        | 0.5 U             |
| H <sub>2</sub> O      | đủ thể tích 50 µl |

## **Bước 3: Cắt với enzym giới hạn**

- Thực hiện phản ứng cắt bằng enzym giới hạn với các thành phần sau:

|                                |                   |
|--------------------------------|-------------------|
| Đệm phù hợp với enzym giới hạn | 3 µl              |
| Sản phẩm PCR                   | 20-25 µl          |
| Enzym giới hạn                 | 2 µl              |
| H <sub>2</sub> O               | đủ thể tích 30 µl |

## **Bước 4: Điện di kiểm tra sản phẩm cắt**

Sử dụng 20-25 µl sản phẩm cắt cùng với 10 µl sản phẩm PCR và thang ADN chuẩn (marker) điện di trên gel agarose. Tùy thuộc kích thước đoạn gen cần quan sát mà chọn nồng độ gel agarose và thời gian chạy điện di thích hợp. Sau đó kết quả được đọc và phân tích thông qua hình ảnh soi trên đèn UV.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Sản phẩm PCR phải có băng đặc hiệu, đúng kích thước theo tính toán lý thuyết.
- Nếu sản phẩm cắt có 2 băng ADN trở lên tức là có vị trí nhận biết của enzym giới hạn (không có đa hình)
- Nếu sản phẩm cắt vẫn còn nguyên sản phẩm PCR tức là mất vị trí nhận biết của enzym giới hạn (có đa hình).

Phương pháp phát hiện các đa hình gen đặc trưng ở người bệnh hemophilia sau đó sử dụng các đa hình này để tìm kiếm cá thể mang gen trong gia đình là phương pháp đã được thực hiện từ lâu trên thế giới. Ưu điểm của phương pháp là kỹ thuật thực hiện đơn giản, không cần phải đầu tư nhiều trang thiết bị đắt tiền và chi phí để thực hiện xét nghiệm thấp.

Tuy nhiên phương pháp này yêu cầu phải lấy mẫu của nhiều thành viên trong gia đình đồng thời phải biết được các đa hình có tần suất cao ở Việt nam.

Cách xác định tình trạng mang gen của một người nữ trong gia đình có người bệnh hemophilia:

- Lấy mẫu: bố mẹ của người nữ cần xác định, người bệnh là anh trai hoặc em trai hoặc một người nam giới liên quan khác như bác ruột về phía mẹ.

- Cách phân tích:

+ Phân tích người bệnh để xác định được allele liên quan đến gen yếu tố VIII đột biến.

+ Phân tích bố, mẹ để xác định di truyền của các allele (allele bình thường và allele liên quan đến gen đột biến) cho các con. Trong đó người mẹ bắt buộc phải là thể dị hợp tử với đa hình phân tích. Phân tích mẫu của bố sẽ xác định được allele truyền cho con gái.

Kết hợp các kết quả phân tích trên sẽ xác định được người phụ nữ mang gen trong gia đình.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **SAI SÓT**

### **XỬ TRÍ**

Lấy mẫu không đủ hoặc sai chất chống đông.

Thực hiện theo đúng hướng dẫn qui cách lấy mẫu.

Thao tác pipet không chính xác.

Sử dụng pipet theo đúng thể tích quy định.

Tín hiệu phản ứng không rõ ràng.

Bảo quản hóa chất đúng theo khuyến cáo của nhà sản xuất

Thực hiện đúng, đủ các bước trong quy trình xét nghiệm.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. D J Bowen. *Haemophilia A and Haemophilia B: molecular insights*. J Clin Pathol: Mol Pathol 2002; 55:1-8
2. Keeney S et al. *The molecular analysis of haemophilia A: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organization Haemophilia Genetics Laboratory Network*. Haemophilia 2005; 11: 387-97

**XÉT NGHIỆM FISH (Fluorescence *in situ* hybridization)**  
**XÁC ĐỊNH NHIỄM SẮC THỂ X, Y**  
**DETECTION OF X,Y CHROMOSOMES BY FLUORESCENCE *IN SITU***  
**HYBRIDIZATION**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý chung: xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

Dựa trên đặc tính này, kỹ thuật FISH xác định nhiễm sắc thể X, Y sử dụng các probe là các đoạn ADN có gắn huỳnh quang và có trình tự nucleotide bổ sung đặc hiệu cho các đoạn ADN trên nhiễm sắc thể X, Y để lai ghép với các đoạn ADN tương đồng trên nhiễm sắc thể X hoặc Y. Từ đó, chúng ta có thể phát hiện các nhiễm sắc thể này một cách chính xác.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này được chỉ định khi cần xác định giới tính hoặc xác định mọc mảnh ghép sau khi ghép khác giới tính.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm Di truyền – Sinh học phân tử đã được đào tạo.

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Thiết bị: bể ổn nhiệt, máy lai, máy ly tâm, máy trộn mẫu, và kính hiển vi huỳnh quang;

- Dụng cụ: kẹp kim loại, 10 cốc Coplin, nhiệt kế, coverslip 22x22, pipetman 100 µl, 10 µl, xi măng cao su, ống đông, giấy thấm.

#### **2.2. Hóa chất**

- X/Y ADN Probe Kit Probe , DAPI/antifade;
- Dung dịch 10% formamide: 5 ml formamide + 30 ml H<sub>2</sub>O + 15 ml 20X SSC
- Dung dịch 2X SSC;
- Dung dịch rửa 0,1% NP40: 2X SSC + 0,1% NP40;
- Dung dịch rửa 0,3% NP-40: 0,4X SSC + 0,3% NP40;



- Cồn 70°, 85°, 100°.

### **3. Bệnh phẩm**

2ml máu ngoại vi hoặc dịch hút tủy xương được đựng trong bơm tiêm có tráng chất chống đông heparin 5.000 đơn vị/ml.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Xem bài “Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang, với kỹ thuật dual colour FISH, chúng ta sẽ thấy 3 màu:

- + Màu xanh da trời đậm: màu nhân tế bào;
- + Màu xanh lá cây: màu của probe gắn trên nhiễm sắc thể X;
- + Màu đỏ: màu của probe gắn trên nhiễm sắc thể Y.

### **Nhận định kết quả**

- + Một tín hiệu đỏ, một tín hiệu xanh: XY;
- + Hai tín hiệu đỏ: XX.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Tài liệu hướng dẫn sử dụng của công ty Vysis.
2. Lynda J. Cambell, ( 2011), “Cancer cytogenetic”, Human Press.

**XÉT NGHIỆM FISH (Fluorescence *in situ* hybridization)**  
**XÁC ĐỊNH NHIỄM SẮC THỂ Ph1(BCR/ABL)**  
**DETECTION OF PH1(BCR/ABL) CHROMOSOME BY FLUORESCENCE *IN***  
***SITU* HYBRIDIZATION**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý chung: xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

Dựa trên đặc tính này, kỹ thuật FISH xác định nhiễm sắc thể Ph1 (BCR/ABL) sử dụng các probe là đoạn ADN có gắn huỳnh quang và có trình tự nucleotide bổ sung đặc hiệu với đoạn ADN của gen BCR trên nhiễm sắc thể số 22 và gen ABL trên nhiễm sắc thể số 9. Các probe này lai ghép với các đoạn ADN tương đồng trên nhiễm sắc thể. Từ đó, chúng ta có thể phát hiện bệnh lý một cách chính xác và nhanh chóng.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này chỉ định cho người bệnh trong trường hợp nghi ngờ có nhiễm sắc thể Ph.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm Di truyền-Sinh học phân tử đã được đào tạo.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Thiết bị: bể ổn nhiệt, máy lai, máy ly tâm, máy trộn mẫu, và kính hiển vi huỳnh quang;

- Dụng cụ: cặp kim loại, 10 cốc Coplin, nhiệt kế, coverslip 22x22, pipetman 100 µl, 10 µl, xi măng cao su, ống đông, giấy thấm.

#### **2.2. Hóa chất**

- Probe BCR/ABL dual colour, dual fusion translocation probe, DAPI / antifade;

- Dung dịch 10% formamide: 5 ml formamide + 30 ml H<sub>2</sub>O + 15 ml 20X SSC

- Dung dịch 2X SSC

- Dung dịch rửa 0,1% NP40: 2X SSC + 0,1% NP40
- Dung dịch rửa 0,3% NP-40: 0,4X SSC + 0,3% NP40
- Cồn 70°, 85°, 100°

### **3. Bệnh phẩm**

2ml máu ngoại vi hoặc dịch hút tủy xương được đựng trong bơm tiêm có tráng chất chống đông heparin 5.000 đơn vị/ml.

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Xem bài “Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang, với kỹ thuật dual colour FISH, chúng ta có thể thấy 3 màu.

- + Màu xanh da trời đậm: màu nhân tế bào
- + Màu xanh: màu của probe BCR (trên nhiễm sắc thể số 22)
- + Màu đỏ: màu của probe ABL (trên nhiễm sắc thể số 9)
- +Màu da cam (đỏ/xanh): màu của fusion BCR/ABL

#### **Nhận định kết quả:**

- + Không có nhiễm sắc thể Ph1: hai tín hiệu đỏ và hai tín hiệu xanh.
- + Có nhiễm sắc thể Ph1 (có chuyển đoạn BCR/ABL): Một tín hiệu đỏ, một tín hiệu xanh, hai tín hiệu màu da cam.

### **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Tài liệu hướng dẫn sử dụng của công ty Vysis.
2. Lynda J. Cambell, ( 2011), “Cancer cytogenetic”, Human Press.

**XÉT NGHIỆM FISH (Fluorescence in situ hybridization) CHẨN ĐOÁN**  
**CHUYỂN ĐOẠN NHIỄM SẮC THỂ 4;11**  
**DETECTION OF CHROMOSOME TRANSLOCATION (4;11) BY**  
**FLUORESCENCE *IN SITU* HYBRIDIZATION**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý chung: xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

Dựa trên đặc tính này, kỹ thuật FISH xác định t(4;11) sử dụng các probe là đoạn ADN có gắn huỳnh quang và có trình tự nucleotide bổ sung đặc hiệu với đoạn ADN của gen AF4 trên nhiễm sắc thể số 4 và gen MLL trên nhiễm sắc thể số 11. Các probe này lai ghép với các đoạn ADN tương đồng trên nhiễm sắc thể. Từ đó, chúng ta có thể phát hiện bệnh lý một cách chính xác và nhanh chóng.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này chỉ định cho người bệnh trong trường hợp nghi ngờ có chuyển đoạn t(4;11).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV . CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Kỹ thuật viên xét nghiệm Di truyền-Sinh học phân tử đã được đào tạo.

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Thiết bị: bể ổn nhiệt, máy lai, máy ly tâm, máy trộn mẫu, và kính hiển vi huỳnh quang.

- Dụng cụ: kẹp kim loại, 10 cốc Coplin, nhiệt kế, coverslip 22x22, pipetman 100 µl, 10 µl, xi măng cao su, ống đông, giấy thấm.

#### **2.2. Hóa chất**

- AF4/MLL Dual Color, Dual fusion translocation probe, DAPI / antifade;

- Dung dịch 10% formamide: 5 ml formamide + 30 ml H<sub>2</sub>O + 15 ml 20X SSC;

- Dung dịch 2X SSC;

- Dung dịch rửa 0,1% NP40: 2X SSC + 0,1% NP40;

- Dung dịch rửa 0,3% NP-40: 0,4X SSC + 0,3% NP40;
- Cồn 70°, 85°, 100°.

### **3. Bệnh phẩm**

2ml máu ngoại vi hoặc dịch hút tủy xương được đựng trong bơm tiêm có tráng chất chống đông heparin 5.000 đơn vị/ml.

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang, với kỹ thuật FISH hai màu, chúng ta sẽ thấy 3 màu.

- + Màu xanh da trời đậm: màu nhân tế bào;
- + Màu xanh: màu của probe;
- + Màu đỏ: màu của probe.

#### **Nhận định kết quả:**

- + Không có chuyển đoạn t(4;11): hai tín hiệu đỏ và hai tín hiệu xanh;
- + Có chuyển đoạn t(4;11): một tín hiệu đỏ, một tín hiệu xanh, hai tín hiệu màu da cam.

### **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Tài liệu hướng dẫn sử dụng của công ty Vysis.
2. Lynda J. Cambell, ( 2011), “Cancer cytogenetic”, Human Press.

**XÉT NGHIỆM FISH (Fluorescence in situ hybridization) CHẨN ĐOÁN  
CHUYỂN ĐOẠN NHIỄM SẮC THỂ 1;19  
DETECTION OF CHROMOSOME TRANSLOCATION (1;19) BY  
FLUORESCENCE *IN SITU* HYBRIDIZATION**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý chung: xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

Dựa trên đặc tính này, kỹ thuật FISH xác định t(1;19) sử dụng các probe là đoạn ADN có gắn huỳnh quang và có trình tự nucleotide bổ sung đặc hiệu với đoạn ADN của gen PBX1 trên nhiễm sắc thể số 1 và gen TCF3 trên nhiễm sắc thể số 19. Các probe này lai ghép với các đoạn ADN tương đồng trên nhiễm sắc thể. Từ đó, chúng ta có thể phát hiện bệnh lý một cách chính xác và nhanh chóng.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này chỉ định cho người bệnh trong trường hợp nghi ngờ có chuyển đoạn t(1;19).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm Di truyền-Sinh học phân tử đã được đào tạo.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Thiết bị: bể ổn nhiệt, máy lai, máy ly tâm, máy trộn mẫu, và kính hiển vi huỳnh quang.

- Dụng cụ: kẹp kim loại, 10 cốc Coplin, nhiệt kế, coverslip 22x22, pipetman 100 µl, 10 µl, xi măng cao su, ống đông, giấy thấm.

#### **2.2. Hóa chất**

- LSI TCF3/PBX1 Dual Color, Dual fusion translocation probe, DAPI/antifade;

- Dung dịch 10% formamide: 5 ml formamide + 30 ml H<sub>2</sub>O + 15 ml 20X SSC

- Dung dịch 2X SSC;

- Dung dịch rửa 0,1% NP40: 2X SSC + 0,1% NP40;
- Dung dịch rửa 0,3% NP-40: 0,4X SSC + 0,3% NP40;
- Cồn 70°, 85°, 100°

### **3. Bệnh phẩm**

2ml máu ngoại vi hoặc dịch hút tủy xương được đựng trong bơm tiêm có tráng chất chống đông heparin 5.000 đơn vị/ml.

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang, với kỹ thuật FISH hai màu, chúng ta sẽ thấy 3 màu.

- + Màu xanh da trời đậm: màu nhân tế bào;
- + Màu xanh: màu của probe;
- + Màu đỏ: màu của probe.

#### **Nhận định kết quả**

- + Không có chuyển đoạn t(1;19): hai tín hiệu đỏ và hai tín hiệu xanh;
- + Có chuyển đoạn t(1;19): một tín hiệu đỏ, một tín hiệu xanh, hai tín hiệu màu da cam.

### **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Tài liệu hướng dẫn sử dụng của công ty Vysis.
2. Lynda J. Cambell, ( 2011), “Cancer cytogenetic”, Human Press.

**XÉT NGHIỆM FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) XÁC ĐỊNH  
CHUYỂN ĐOẠN NHIỄM SẮC THỂ 8 VÀ 21  
DETECTION OF CHROMOSOME TRANSLOCATION (8;21) BY  
FLUORESCENCE *IN SITU* HYBRIDIZATION**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý chung: xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

Dựa trên đặc tính này, kỹ thuật FISH xác định t(8;21) sử dụng các probe là đoạn ADN có gắn huỳnh quang và có trình tự nucleotide bổ sung đặc hiệu với đoạn ADN của gen AML1 trên nhiễm sắc thể số 8 và gen ETO trên nhiễm sắc thể số 21. Các probe này lai ghép với các đoạn ADN tương đồng trên nhiễm sắc thể. Từ đó, chúng ta có thể phát hiện bệnh lý một cách chính xác và nhanh chóng.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này chỉ định cho người bệnh trong trường hợp nghi ngờ có chuyển đoạn t(8;21).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm di truyền-sinh học phân tử đã được đào tạo.

### **2. Dụng cụ - Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Thiết bị: bể ổn nhiệt, máy lai, máy ly tâm, máy trộn mẫu, và kính hiển vi huỳnh quang.

- Dụng cụ: kẹp kim loại, 10 cốc Coplin, nhiệt kế, coverslip 22x22, pipetman 100 µl , 10 µl , xi măng cao su, ống đông, giấy thấm.

#### **2.2. Hóa chất**

- LSI AML1/ETO Dual color, Dual fusion translocation probe, DAPI / antifade.

- Dung dịch 10% formamide: 5 ml formamide + 30 ml H<sub>2</sub>O + 15 ml 20X SSC



- Dung dịch 2X SSC
- Dung dịch rửa 0,1% NP40: 2X SSC + 0,1% NP40
- Dung dịch rửa 0,3% NP-40: 0,4X SSC + 0,3% NP40
- Cồn 70°, 85°, 100°

### **3. Bệnh phẩm**

2ml máu ngoại vi hoặc dịch hút tủy xương được đựng trong bơm tiêm có tráng chất chống đông heparin 5.000 đơn vị/ml.

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang, với kỹ thuật FISH hai màu, chúng ta sẽ thấy 3 màu.

- + Màu xanh da trời đậm: màu nhân tế bào;
- + Màu xanh: màu của probe;
- + Màu đỏ: màu của probe;

#### **Nhận định kết quả**

- + Có chuyển đoạn của nhiễm sắc thể 8 và 21 (có tổ hợp gen lai AML1/ETO): Một tín hiệu đỏ, một tín hiệu xanh, 2 tín hiệu màu da cam.
- + Bình thường (không có tổ hợp gen lai AML1/ETO): Hai tín hiệu đỏ và hai tín hiệu xanh.

### **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Tài liệu hướng dẫn sử dụng của công ty Vysis.
2. Lynda J. Cambell, ( 2011), “Cancer cytogenetic”, Human Press.

**XÉT NGHIỆM FISH (Fluorescence *in situ* hybridization) XÁC ĐỊNH  
CHUYỂN ĐOẠN NHIỄM SẮC THỂ 15 VÀ 17  
DETECTION OF CHROMOSOME TRANSLOCATION (15;17) BY  
FLUORESCENCE *IN SITU* HYBRIDIZATION**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý chung: xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

Dựa trên đặc tính này, kỹ thuật FISH xác định t(15;17) sử dụng các probe là đoạn ADN có gắn huỳnh quang và có trình tự nucleotide bổ sung đặc hiệu với đoạn ADN của gen PML trên nhiễm sắc thể số 15 và gen RARA trên nhiễm sắc thể số 17. Các probe này lai ghép với các đoạn ADN tương đồng trên nhiễm sắc thể. Từ đó, chúng ta có thể phát hiện bệnh lý một cách chính xác và nhanh chóng.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này chỉ định cho người bệnh trong trường hợp nghi ngờ có chuyển đoạn t(4;11).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên xét nghiệm Di truyền-Sinh học phân tử đã được đào tạo.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Thiết bị: bể ổn nhiệt, máy lai, máy ly tâm, máy trộn mẫu, và kính hiển vi huỳnh quang.

- Dụng cụ: kẹp kim loại, 10 cốc Coplin, nhiệt kế, coverslip 22x22, pipetman 100 µl, 10 µl, xi măng cao su, ống đong, giấy thấm.

#### **2.2. Hóa chất**

- LSI PML/RARA Dual Color, Dual fusion translocation probe, DAPI / antifade.

- Dung dịch 10% formamide: 5 ml formamide + 30 ml H<sub>2</sub>O + 15 ml 20X SSC

- Dung dịch 2X SSC

- Dung dịch rửa 0,1% NP40: 2X SSC + 0,1% NP40
- Dung dịch rửa 0,3% NP-40: 0,4X SSC + 0,3% NP40
- Cồn 70°, 85°, 100°

### **3. Bệnh phẩm**

2ml máu ngoại vi hoặc dịch hút tủy xương được đựng trong bơm tiêm có tráng chất chống đông heparin 5.000 đơn vị/ml.

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang, với kỹ thuật FISH hai màu, chúng ta sẽ thấy 3 màu.

- + Màu xanh da trời đậm: màu nhân tế bào
- + Màu xanh: màu của probe
- + Màu đỏ: màu của probe

#### **Nhận định kết quả:**

+ Có chuyển đoạn của nhiễm sắc thể 15 và 17 (có tổ hợp gen lai PML/RARA): Một tín hiệu đỏ, một tín hiệu xanh, 2 tín hiệu màu da cam.

+ Bình thường (không có tổ hợp gen lai PML/RARA): Hai tín hiệu đỏ và hai tín hiệu xanh.

### **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Xem bài “ Quy trình xét nghiệm gen bằng kỹ thuật FISH”.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Tài liệu hướng dẫn sử dụng của công ty Vysis.
2. Lynda J. Cambell, ( 2011), “Cancer cytogenetic”, Human Press.

# **TÁCH CHIẾT ADN TỪ MÁU NGOẠI VI/MÁU CUÔNG RÓN**

## **DNA ISOLATION FROM PERIPHERAL BLOOD CELLS**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Các tế bào có nhân đều chứa ADN - vật chất di truyền của toàn bộ cơ thể. ADN nằm trên nhiễm sắc thể bên trong nhân tế bào. Để tách được ADN người ta thường sử dụng các chất tẩy mạnh để phá màng tế bào và màng nhân, kết hợp với sử dụng các chất biến tính mạnh để loại bỏ các protein sau đó sử dụng cồn 96° kết hợp với điều kiện nhiệt độ thấp để thu được ADN một cách tinh sạch và nguyên vẹn.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Sử dụng cho tất cả người bệnh có chỉ định làm xét nghiệm PCR.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên xét nghiệm Sinh học phân tử đã được đào tạo.

#### **2. Phương tiện - Hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

- Buồng vô trùng (biology cabinet);
- Máy ly tâm tốc độ cao (tốc độ tối đa 14.000 vòng/phút);
- Máy vortex;
- Các loại pipet 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl;
- Đầu côn có màng lọc;
- Ống eppendorf 1,5 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Ống PCR 0,2 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Tủ lạnh 4-8<sup>0</sup>C, tủ âm sâu -20<sup>0</sup>C;
- Găng tay.

##### **2.2. Hóa chất**

Sử dụng kit tách ADN thương mại. Nếu tách thủ công thì sử dụng các sinh phẩm cần thiết để tách chiết ADN như proteinase K, đệm ly giải tế bào, phenol/chloroform, cồn tuyệt đối.

#### **3. Bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi/máu cuông rón chống đông bằng EDTA.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

2 ml máu ngoại vi/máu cuống rốn chống đông bằng EDTA.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

Phương pháp tách chiết ADN cơ bản bao gồm các giai đoạn chính sau:

#### *Phá màng tế bào và màng nhân:*

Bệnh phẩm được ủ trong một dung dịch gồm chất tẩy mạnh (như SDS, sarcosyl) và enzym phân hủy protein (proteinaza K). Mục tiêu của bước ủ này là để phá màng tế bào và màng nhân đồng thời để ức chế hoạt động của các enzym ADNaza nội bào và tách protein ra khỏi các phân tử ADN.

#### *Loại bỏ các protein:*

Sử dụng dung dịch phenol/chloroform để biến tính protein, làm cho protein tạo thành một lớp tủa rõ rệt sau khi ly tâm, dễ dàng loại bỏ khỏi hỗn dịch.

#### *Kết tủa ADN:*

Sử dụng cồn để tủa ADN trong điều kiện lạnh và thu nhận lại ADN bằng ly tâm. ADN cần phải hòa lại trong nước khử enzym nucleaza.

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Sử dụng 5µl ADN thu được để điện di kiểm tra trên gel agarose 0,5 - 0,8%, đồng thời đo độ sạch bằng quang phổ (A260/A280). Chất lượng ADN tốt nếu chỉ xuất hiện một băng có kích thước lớn >10 kb và tinh sạch nếu A260/A280 trong khoảng 1,8 - 2,0.

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### SAI SÓT

- Lấy mẫu không đủ hoặc sai chất chống đông.
- Thao tác pipet không chính xác.
- Tín hiệu phản ứng không rõ ràng.

### XỬ TRÍ

- Thực hiện theo đúng hướng dẫn qui cách lấy mẫu.
- Sử dụng pipet theo đúng thể tích quy định.
- Bảo quản hóa chất đúng theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Thực hiện đúng, đủ các bước trong quy trình xét nghiệm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hồ Huỳnh Thủy Dương (1997). Các phương pháp tách chiết axit nucleic. Sinh học phân tử. NXB Giáo Dục, trang 124-125.
2. A.Rolfs et al (1992). PCR:Clinical Diagnosis and Research. Springer Verlag, Berlin.

# **TÁCH CHIẾT ARN TỪ MÁU NGOẠI VI/TỦY XƯƠNG**

## **RNA ISOLATION FROM PERIPHERAL BLOOD AND BONE MARROW SAMPLES**

### **I. NGUYÊN LÝ**

ARN thông tin quy định các thông tin về axit amin và nằm trong tế bào chất của tế bào. Để tách được ARN người ta thường sử dụng các chất tẩy mạnh để phá màng tế bào, kết hợp với sử dụng các chất biến tính mạnh để loại bỏ các protein sau đó sử dụng cồn 96<sup>0</sup> kết hợp với điều kiện nhiệt độ thấp để thu được ARN một cách tinh sạch và nguyên vẹn.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Sử dụng cho tất cả người bệnh có chỉ định làm xét nghiệm RT-PCR/qRT-PCR.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên xét nghiệm sinh học phân tử đã được đào tạo;
- Tất cả các mẫu bệnh phẩm có chỉ định xét nghiệm RT-PCR hoặc qRT-PCR.

#### **2. Phương tiện - Hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

- Tủ hút hóa chất (chemical fume hood);
- Buồng vô trùng (biology cabinet);
- Máy ly tâm tốc độ cao (tốc độ tối đa 14.000 vòng/phút);
- Máy vortex;
- Các loại pipet 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl;
- Đầu côn có màng lọc;
- Ống eppendorf 1,5 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Ống PCR 0,2 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Tủ lạnh 4-8<sup>0</sup>C, tủ âm sâu -20<sup>0</sup>C;
- Găng tay.

##### **2.2. Hóa chất**

Sử dụng kit tách ARN thương mại. Nếu tách thủ công thì sử dụng các sinh phẩm cần thiết để tách chiết ARN như glycogen, proteinase K, đệm ly giải tế bào, phenol/chloroform, cồn tuyệt đối.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi hoặc dịch tủy xương chống đông bằng EDTA.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Phương pháp tách chiết ARN cơ bản bao gồm các giai đoạn chính sau:

#### **2.1. Loại bỏ các tế bào hồng cầu**

ARN nằm ở tế bào chất bên trong các tế bào có nhân. Vì vậy thông thường bệnh phẩm sẽ được xử lý trước để loại bỏ bớt các tế bào hồng cầu. Để loại bỏ các tế bào hồng cầu có thể sử dụng dung dịch Ficoll (có tỷ trọng 1.077) để phân lớp các tế bào theo tỷ trọng hoặc sử dụng một số dung dịch ly giải hồng cầu (như dung dịch gồm 1M  $MgCl_2$ , 5M NaCl, 1M Tris-HCl). Sau khi loại bỏ bớt các tế bào hồng cầu, dung dịch còn lại chứa chủ yếu các tế bào có nhân sẽ được sử dụng để tách ARN.

#### **2.2. Phá màng tế bào và màng nhân:**

Các tế bào có nhân được ủ trong một dung dịch gồm chất tẩy mạnh (như SDS, sarcosyl), một chất gây biến tính protein mạnh như (guanidinium thiocyanat), một chất khử (2-mercaptoethanol). Mục tiêu của bước ủ này là để phá màng tế bào đồng thời để ức chế hoạt động của các enzym phân hủy ARN nội bào (ARNaza) và tách các protein lên kết khỏi phân tử ARN.

#### **2.3. Loại bỏ các protein:**

Sử dụng dung dịch phenol/chloroform để biến tính protein, làm cho protein tạo thành một lớp tủa rõ rệt sau khi ly tâm, dễ dàng loại bỏ khỏi hỗn dịch

#### **2.4. Kết tủa ARN:**

Sử dụng cồn tuyệt đối để tủa ARN trong điều kiện đông lạnh và thu nhận lại ARN bằng ly tâm. ARN cần phải hòa lại trong nước khử enzym nucleaza.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Sử dụng 5  $\mu$ l ARN thu được để điện di kiểm tra trên gel agarose 0,5 - 0,8%, đồng thời kiểm tra độ sạch bằng đo quang phổ ( $A_{260}/A_{280}$ ). Chất lượng ARN tốt nếu xuất hiện ba băng điện di tương ứng với 3 loại ARN 28S, 18S và 5,8S; tinh sạch nếu  $A_{260}/A_{280}$  trong khoảng 1,8 – 2,0.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**



### **SAI SÓT**

- Lấy mẫu không đủ hoặc sai chất chống đông.
- Thao tác pipet không chính xác.
- Tín hiệu phản ứng không rõ ràng.

### **XỬ TRÍ**

- Thực hiện theo đúng hướng dẫn qui cách lấy mẫu.
- Sử dụng pipet theo đúng thể tích quy định.
- Bảo quản hóa chất đúng theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Thực hiện đúng, đủ các bước trong quy trình xét nghiệm

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Hồ Huỳnh Thủy Dương (1997). Các phương pháp tách chiết axit nucleic. Sinh học phân tử. NXB Giáo Dục, trang 124-125.
2. A.Rolfs et al (1992). PCR:Clinical Diagnosis and Research. Springer Verlag, Berlin.

# **PCR CHẨN ĐOÁN BỆNH ALPHA THALASSEMIA (05 ĐỘT BIẾN)**

## **PCR DETECTION OF ALPHA THALASSEMIA GENE MUTATION (5 MUTATIONS)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Phản ứng tổng hợp chuỗi (PCR) là phản ứng cho phép nhân bản chính xác một trình tự ADN quan tâm lên hàng triệu lần. Sử dụng phương pháp PCR thông thường với một cặp mồi đặc trưng chỉ phát hiện được một đột biến. Để phát hiện nhiều hơn một đột biến sẽ phải làm nhiều xét nghiệm PCR. Có rất nhiều loại đột biến gây bệnh anpha Thalassemia. Trong trường hợp này sử dụng kỹ thuật Multiplex PCR là giải pháp tối ưu. Đây là phương pháp sử dụng nhiều cặp mồi trong cùng một phản ứng PCR. Như vậy chỉ cần một phản ứng Multiplex PCR chúng ta đã có thể phát hiện được nhiều đột biến cùng một lúc.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Sử dụng cho tất cả người bệnh có chẩn đoán Alpha-Thalassemia.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm sinh học phân tử đã được đào tạo.

#### **2. Phương tiện - Hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

- Máy PCR;
- Hệ thống máy điện di, hệ thống đèn cực tím soi gel, hệ thống máy chụp ảnh;
- Buồng vô trùng (biology cabinet);
- Máy ly tâm tốc độ cao (tốc độ tối đa 14.000 vòng/phút);
- Máy vortex;
- Các loại pipet 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl;
- Đầu côn có màng lọc;
- Ống eppendorf 1,5 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Ống PCR 0,2 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Tủ lạnh 4-8<sup>0</sup>C, tủ âm sâu -20<sup>0</sup>C;
- Găng tay.

## 2.2. Hóa chất

- Kit tách ADN thương mại hoặc các hóa chất cần thiết cho tách chiết thủ công ADN (proteinase K, đệm ly giải tế bào, phenol/chloroform, cồn tuyệt đối).

- Hóa chất chạy PCR gồm: Đệm,  $MgCl_2$ , dNTPs, enzym kéo dài chuỗi, nước khử ion vô trùng.

- Các môi đặc hiệu gồm 12 môi để xác định đồng thời 5 đột biến mất đoạn; đồng thời cho biết tính đồng hợp, dị hợp tử đột biến và 1 cặp môi sử dụng làm chứng nội kiểm (Internal control). Theo bảng sau:

| Môi              | Trình tự                                              |
|------------------|-------------------------------------------------------|
| SEA CF           | 5' - CTC TGT GTT CTC CAG TAT TGG AGG GAA GGA G - 3'   |
| SEA NR           | 5' - TGA AGA GCC TGC AGG ACC AGG TCA GTG ACC G - 3'   |
| SEA MR           | 5' - ATA TAT GGG TCT GGA AGT GTA TCC CTC CCA - 3'     |
| FIL MF           | 5' - AAG AGA ATA AAC CAC CCA ATT TTT AAA TGG GCA - 3' |
| FIL MR           | 5' - GAG ATA ATA ACC TTT ATC TGC CAC ATG TAG CAA - 3' |
| THAI MF          | 5' - CAC GAG TAA AAC ATC AAG TAC ACT CCA GCC - 3'     |
| THAI MR          | 5' - TGG ATC TGC ACC TCT TGG GTA GGT TCT CTA CC - 3'  |
| $\alpha 2/3.7$ F | 5' - CCC CTC GCC AAG TCC ACC C - 3'                   |
| 3.7/20.5R        | 5' - AAA GCA CTC TGA GGG TCC AGC G - 3'               |
| $\alpha 2$ R     | 5' - AGA CCA GGA AGG GCC GGT G - 3'                   |
| 4.2 R            | 5' - CCC GTT GGA TCT TCT CAT TTC CC - 3'              |
| 4.2 F            | 5' - GGT TTA CCC ATG TGG TGC CTC - 3'                 |

- Thạch agarose, đệm tra mẫu, thang chuẩn ADN.

- Thuốc nhuộm ethidium bromide.

## 3. Bệnh phẩm

2 ml máu ngoại vi đựng trong ống chống đông EDTA.

## 4. Phiếu xét nghiệm

Có đầy đủ các thông tin cần thiết về người bệnh, về chẩn đoán và yêu cầu xét nghiệm.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

2 ml máu ngoại vi chống đông bằng EDTA.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### 2.1. Tách chiết ADN

Xem bài “Tách chiết ADN từ máu ngoại vi”

## 2.2. Thực hiện phản ứng Multiplex PCR phát hiện 5 đột biến bệnh alpha thalassaemia.

| STT | Sinh phẩm         | Thành phần (µl)/1 pứ |
|-----|-------------------|----------------------|
| 1   | H <sub>2</sub> O  | 5,5                  |
| 2   | 2X GoTaq Green MM | 12,5                 |
| 3   | DMSO              | 1,0                  |
| 4   | Hỗn hợp mồi       | 5,0                  |
| 5   | DNA               | 1,0                  |
|     | Tổng thể tích     | 25,0                 |

- Ly tâm nhẹ để các thành phần lắng xuống đáy ống hoàn toàn
- Đặt vào máy PCR
- Chọn chương trình
- Bấm start để máy chạy

## 2.3 Điện di sản phẩm PCR

### 2.3.1. Chuẩn bị gel agarose

- Cân 1 g agarose cho vào bình thủy tinh chịu nhiệt.
- Thêm 100 ml đệm điện di (TAE 1X /TBE 1X...) vào bình, lắc đều.
- Đun mỗi lần 1 phút trong lò vi sóng đến khi agarose tan hoàn toàn.
- Để ấm đến 60<sup>0</sup> rồi đổ vào khay đã cắm lược.
- Để nhiệt độ phòng 30 phút để thạch đông rồi mới rút lược ra.

### 2.3.2. Điện di

- Lấy 5 µl sản phẩm PCR + 1 µl đệm tra mẫu + 4 µl dH<sub>2</sub>O
- Trộn đều và nhỏ vào các giếng theo thứ tự
- Nhỏ 3 µl marker ADN vào giếng kế tiếp
- Đặt bản gel vào máy điện di
- Đổ đệm điện di ngập bản gel và chạy ở 100 V trong 20 phút
- Nhuộm bản gel với dung dịch ethidium bromide trong 5 phút

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Kết quả dương tính nếu nhìn thấy vạch sáng dưới đèn UV, sản phẩm có kích thước phù hợp theo lý thuyết.

## VII . NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### SAI SÓT

- Lấy mẫu không đủ hoặc sai chất chống đông.

### XỬ TRÍ

- Thực hiện theo đúng hướng dẫn qui cách lấy mẫu.

- Thao tác pipet không chính xác.
- Tín hiệu phản ứng không rõ ràng.
- Sử dụng pipet theo đúng thể tích quy định.
- Bảo quản hóa chất đúng theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Thực hiện đúng, đủ các bước trong quy trình xét nghiệm.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Chong *et al.*, Single-tube multiplex-PCR screen for common deletional determinants of  $\alpha$ -thalassemia. *Blood* 2000;95:360–362.
2. Old JM DNA-based diagnosis of the hemoglobin disorders. In: Steinberg MH, Forget PG, Higgs DR, Nagel RL (eds) *Disorders of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management*. Cambridge University Press, Cambridge, UK(2001). pp 941-57.

# KỸ THUẬT NESTED RT-PCR PHÁT HIỆN GEN LAI BCR/ABL

## NESTED RT-PCR DETECTION OF BCR/ABL FUSION GENE

### I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật “nested” RT-PCR dựa trên nguyên lý chung của kỹ thuật PCR: sử dụng hoạt tính tổng hợp ADN của enzym Taq-polymerase; cùng với các vật liệu cơ bản gồm các bazơ nitơ tự do (dNTPs), hai đoạn mồi: mồi xuôi (forward primer) và mồi ngược (reverse primer) để nhân bản đoạn gen quan tâm. Do đối tượng cần khuếch đại của kỹ thuật RT-PCR là ARN thông tin vì vậy phản ứng “nested” RT-PCR sẽ gồm có 3 bước cơ bản như sau:

**Bước 1 - RT ( reverse transcription - phiên mã ngược):** là bước chuyển đổi ARN sợi khuôn thành sợi ADN bổ trợ (ADNc), được thực hiện bởi enzym phiên mã ngược (reverse transcriptase).

**Bước 2 - PCR vòng 1 :** sử dụng sản phẩm của bước 1 làm khuôn để thực hiện phản ứng PCR với sự tham gia của cặp mồi vòng ngoài (external primer) để nhân bản vùng gen có chứa trình tự gen đích BCR-ABL.

**Bước 3 - PCR vòng 2:** sản phẩm PCR vòng 1 được sử dụng làm khuôn để thực hiện phản ứng PCR lần 2 với sự tham gia của cặp mồi vòng trong (internal primer) để nhân bản chính xác đoạn gen đích.

### II. CHỈ ĐỊNH

Sử dụng cho tất cả người bệnh có chẩn đoán CML/ALL/CLL.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên xét nghiệm sinh học phân tử đã được đào tạo.

#### 2. Phương tiện - Hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Máy PCR;
- Hệ thống máy điện di, hệ thống đèn cực tím soi gel, hệ thống máy chụp ảnh;
- Tủ hút hóa chất (chemical fume hood);
- Buồng vô trùng (biology cabinet);
- Máy ly tâm tốc độ cao (tốc độ tối đa 14.000 vòng/phút);

- Máy vortex;
- Các loại pipet 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl;
- Đầu côn có màng lọc;
- Ống eppendorf 1,5 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Ống PCR 0,2 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Tủ lạnh 4-8<sup>0</sup>C, tủ âm sâu -20<sup>0</sup>C;
- Găng tay.

## **2.2. Hóa chất**

- Dung dịch Ficoll hoặc dung dịch ly giải tế bào hồng cầu gồm các muối MgCl<sub>2</sub>, Tris-HCl, NaCl.
- Sử dụng kit tách ARN thương mại. Nếu tách thủ công thì sử dụng các sinh phẩm cần thiết để tách chiết ARN như glycogen, proteinase K, đệm ly giải tế bào, phenol/chloroform, cồn tuyệt đối.
- Hóa chất chạy nested RT-PCR: kit tổng hợp ADNc, kit RT-PCR onestep, PCR supermix. Nếu không sử dụng kit thương mại thì sử dụng các thành phần riêng lẻ như: Đệm, MgCl<sub>2</sub>, dNTPs, enzym phiên mã ngược, enzym kéo dài chuỗi, mồi oligodT hoặc mồi ngẫu nhiên (random primer), các cặp mồi đặc hiệu, nước khử ion vô trùng.
- Hóa chất điện di: thạch agarose, đệm tra mẫu, thang chuẩn ADN, thuốc nhuộm ethidium bromide.

## **3. Bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi đựng trong ống chống đông EDTA.

## **4. Phiếu xét nghiệm**

Có đầy đủ các thông tin cần thiết về người bệnh, về chẩn đoán và yêu cầu xét nghiệm.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi hoặc dịch tủy xương chống đông bằng EDTA

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### ***Bước 1: Tách chiết ARN:***

Xem bài “Tách chiết ARN từ máu ngoại vi/tủy xương

#### ***Bước 2: Thực hiện phản ứng RT-PCR vòng 1(thao tác ở 4<sup>0</sup>C)***

- Đưa các thành phần cần thiết của phản ứng ra nhiệt độ phòng 10 phút để rã đông hoàn toàn.

- Trộn lẫn các thành phần sau vào một ống eppendorf 0,2 ml: master mix (đã bao gồm đệm, dNTPs, MgCl<sub>2</sub>), cặp mồi vòng ngoài, hỗn hợp enzym phiên mã ngược và enzym tổng hợp chuỗi (Taq-platinum), nước khử ion vô trùng, ARN khuôn, được trình bày như bảng dưới đây:

| STT | Sinh phẩm            | Thành phần (μl)/1 pứ |
|-----|----------------------|----------------------|
| 1   | Đệm                  | 12,5                 |
| 2   | ARN                  | 100 ng               |
| 3   | Mồi xuôi (10pM/ μl)  | 1,0                  |
| 4   | Mồi ngược (10pM/ μl) | 1,0                  |
| 5   | Taq-platinum         | 0,5 U                |
| 6   | H <sub>2</sub> O     | Đủ thể tích 25 μl    |
|     | <b>Tổng thể tích</b> | <b>25,0</b>          |

- Ly tâm nhẹ để các thành phần lắng xuống đáy ống hoàn toàn
- Đặt vào máy PCR
- Chọn chương trình
- Bấm start để máy chạy

**Bước 3: Thực hiện phản ứng PCR vòng 2 (thao tác ở 4<sup>o</sup>C)**

- Đưa các thành phần cần thiết của phản ứng ra nhiệt độ phòng 10 phút để rã đông hoàn toàn.

- Trộn lẫn các thành phần sau vào một ống eppendorf 0,2 ml: Master mix (đã bao gồm đệm, dNTPs, MgCl<sub>2</sub>), cặp mồi vòng trong đặc hiệu cho tổ hợp gen BCR-ABL, enzym tổng hợp chuỗi, nước khử ion vô trùng, sản phẩm RT-PCR vòng 1, được trình bày như bảng dưới đây:

| STT | Sinh phẩm            | Thành phần (μl)/1 pứ |
|-----|----------------------|----------------------|
| 1   | Đệm                  | 12,5                 |
| 2   | Sản phẩm PCR vòng 1  | 1                    |
| 3   | Mồi xuôi (10pM/ μl)  | 1,0                  |
| 4   | Mồi ngược (10pM/ μl) | 1,0                  |
| 5   | Enzym                | 0,5 U                |
| 5   | H <sub>2</sub> O     | Đủ thể tích 25 μl    |
|     | <b>Tổng thể tích</b> | <b>25,0</b>          |



- Ly tâm nhẹ để các thành phần lắng xuống đáy ống hoàn toàn;
- Đặt vào máy PCR;
- Chọn chương trình;
- Bấm start để máy chạy.

#### **Bước 4. Điện di sản phẩm PCR**

##### **Chuẩn bị gel agarose:**

- Cân agarose cho vào bình đun gel (nồng độ 1% = 1gram/100ml);
- Thêm đệm TBE 1X hoặc TAE 1X vào bình, lắc đều;
- Đun sôi đến agarose tan hoàn toàn;
- Để ấm đến 60<sup>0</sup>C rồi đổ vào khay gel;
- Để nhiệt độ phòng 30 phút để gel ổn định.

##### **Điện di:**

- Đặt gel vào khay điện di, đổ đầy đệm chạy và rút lược từ từ ra khỏi gel để tránh vỡ giếng;
- Chuẩn bị hỗn hợp: 5µl sản phẩm PCR + 1 µl loading dye 10X + 4 µl dH<sub>2</sub>O.
- Trộn đều và bơm vào các giếng theo thứ tự đã đánh dấu;
- Sử dụng 3 µl ADN ladder để làm thang tính toán kích thước sản phẩm;
- Điện di trong khoảng 30-40 phút, 110V;
- Nhuộm bản gel với dung dịch Ethidium bromide trong 5 phút và soi, chụp ảnh trên đèn soi gel UV.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Kết quả dương tính nếu nhìn thấy vạch sáng dưới đèn UV, sản phẩm có kích thước phù hợp theo lý thuyết .

Trong trường hợp sản phẩm PCR có băng không rõ ràng, nhiều băng không đặc hiệu hoặc đối chứng không chính xác thì phải lặp lại xét nghiệm.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **SAI SÓT**

- Lấy mẫu không đủ hoặc sai chất chống đông.
- Thao tác pipet không chính xác.

### **XỬ TRÍ**

- Thực hiện theo đúng hướng dẫn qui cách lấy mẫu.
- Sử dụng pipet theo đúng thể tích quy định.

- Tín hiệu phản ứng không rõ ràng.
- Bảo quản hóa chất đúng theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Thực hiện đúng, đủ các bước trong quy trình xét nghiệm.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Hồ Huỳnh Thuỳ Dương (1997). Các phương pháp tách chiết axit nucleic. Sinh học phân tử. NXB Giáo Dục, trang 124-125.
2. A.Rolfs et al (1992). PCR:Clinical Diagnosis and Research. Springer Verlag, Berlin.
3. van Dongen JJ, Macintyre EA, Gabert JA, et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Leukemia 1999;13,1901-28.

# **ĐỊNH LƯỢNG GEN BỆNH MÁU ÁC TÍNH BẰNG KỸ THUẬT REAL-TIME PCR**

## **QUANTITATIVE REAL-TIME PCR OF GENES INVOLVED IN MALIGNANT HEMATOPOIETIC DISEASES**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Sử dụng phương pháp Real-time-PCR định lượng ARNm của gen ung thư nhằm mục đích dự đoán thời điểm bệnh tái phát để ngăn chặn trước khi tái phát. Dựa trên sự kiểm soát lượng huỳnh quang tiêu tốn trong phản ứng có thể xác định số lượng ARNm của gen ung thư tại thời điểm đó. Đồng thời trong phản ứng định lượng cùng lúc 2 gen: gen ung thư cần theo dõi và gen tham chiếu (housekeeping gen - là gen có tốc độ biểu hiện như nhau ở cả tế bào ung thư và tế bào lành) sẽ cho phép đánh giá mức độ hoạt động của gen ung thư so với gen tham chiếu ở cùng một thời điểm trong toàn bộ quá trình theo dõi thông qua tỷ lệ số lượng ARNm của gen ung thư/số lượng ARNm gen tham chiếu. Số lượng ARNm của gen ung thư tăng dần là dấu hiệu gen ung thư bắt đầu hoạt động trở lại.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này được chỉ định trước và trong suốt quá trình điều trị cho các người bệnh đang điều trị theo phác đồ nhắm đích.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên xét nghiệm sinh học phân tử đã được đào tạo

#### **2. Phương tiện - Hóa chất**

##### **2.1 Phương tiện**

- Hệ thống máy real-time PCR
- Tủ hút hóa chất (chemical fume hood)
- Buồng vô trùng (biology cabinet).
- Máy ly tâm tốc độ cao (tốc độ tối đa 14.000 vòng/phút).
- Máy vortex.
- Các loại pipet 10  $\mu$ l, 20  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 200  $\mu$ l, 1000  $\mu$ l.
- Đầu côn có màng lọc.

- Ống eppendorf 1,5 ml vô trùng, không có enzym nucleaza.
- Ống PCR 0,2 ml vô trùng, không có enzym nucleaza.
- Tủ lạnh 4-8<sup>0</sup>C, tủ âm sâu -20<sup>0</sup>C.
- Găng tay.

## **2.2 Hóa chất**

- Dung dịch Ficoll hoặc dung dịch ly giải tế bào hồng cầu gồm các muối MgCl<sub>2</sub>, Tris-HCl, NaCl.
- Sử dụng kit tách ARN thương mại. Nếu tách thủ công thì sử dụng các sinh phẩm cần thiết để tách chiết ARN như glycogen, proteinase K, đệm ly giải tế bào, phenol/chloroform, cồn tuyệt đối.
- Hóa chất cho phản ứng định lượng biểu hiện gen: kit thương mại. Nếu không sử dụng kit thương mại thì sử dụng các thành phần riêng lẻ như: Đệm, MgCl<sub>2</sub>, dNTPs, enzym phiên mã ngược, enzym kéo dài chuỗi, mồi oligodT hoặc mồi ngẫu nhiên (random primer), các cặp mồi và probe đặc hiệu, nước khử ion vô trùng.

## **3. Bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi đựng trong ống chống đông EDTA.

## **4. Phiếu xét nghiệm**

Có đầy đủ các thông tin cần thiết về người bệnh, về chẩn đoán và yêu cầu xét nghiệm.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi hoặc dịch tủy xương chống đông bằng EDTA

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **Bước 1: Tách chiết ARN**

Xem bài “Tách chiết ARN từ máu ngoại vi/tủy xương

#### **Bước 2: Thực hiện phản ứng ADNc**

Sử dụng mồi ngẫu nhiên 6 nucleotit (random hexamer primers) và enzym Reverse Transcriptase để chuyển hóa ARN thành ADN thông qua các chu trình nhiệt chuyên biệt.

#### **Bước 3: Thực hiện phản ứng real-time PCR**

##### Chuẩn bị các mẫu chuẩn:

Mỗi loại gen cần định lượng phải có tối thiểu 3 mẫu chuẩn (mẫu chuẩn là các mẫu ARN đích đã biết trước nồng độ, thường sử dụng mẫu chuẩn ở 3 độ pha

loãng liên tiếp) và một mẫu đối chứng âm để kiểm soát ngoại nhiễm (thường sử dụng H<sub>2</sub>O đã khử các enzym phân hủy ADN và ARN hoặc đệm Tris- EDTA 1M, pH=7,5).

#### Chuẩn bị phản ứng:

- Ghi tên các ống theo thứ tự.
- Mỗi ống phản ứng bổ sung đủ các thành phần phản ứng:
  - + Sản phẩm ADNc + master mix theo nồng độ khuyến cáo (nếu sử dụng kit định lượng chế tạo sẵn).
  - + Sản phẩm ADNc + buffer+ enzym+ primer+ probe theo đúng nồng độ đã tối ưu (nếu sử dụng các thành phần riêng lẻ).
- Đặt các ống phản ứng vào các vị trí trên máy.

#### Chuẩn bị chương trình trên máy

- Cài đặt sơ đồ giếng theo đúng các vị trí ống đã đặt trên máy, nhập thông tin mẫu và các nồng độ mẫu chuẩn theo đúng yêu cầu, chọn kênh màu huỳnh quang tương thích.
- Cài đặt chương trình chạy theo chế độ luân nhiệt khuyến cáo của kit hoặc chế độ luân nhiệt đã tối ưu được.
- Chọn vị trí lưu kết quả sau khi kết thúc chương trình chạy.
- Bấm start để bắt đầu chạy theo chương trình đã chọn.

#### **Bước 4: Phân tích kết quả**

- Sau khi kết thúc chương trình chạy, tất cả các kết quả được hiển thị lên màn hình.
- Kiểm tra các đường chuẩn và mẫu đối chứng âm trước.
- + Nếu đạt yêu cầu (theo hướng dẫn của kit sử dụng hoặc theo kết quả lý thuyết đã tối ưu) thì tiếp tục phân tích các mẫu khác theo kết quả thu được.
- + Nếu không đạt yêu cầu (mẫu chuẩn không có tín hiệu huỳnh quang, mẫu đối chứng âm bị nhiễm thành dương tính....) thì không đủ cơ sở để phân tích các mẫu khác. Trong trường hợp này phải lặp lại xét nghiệm sau khi đã tìm ra nguyên nhân sai sót ở xét nghiệm trước.

#### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Nhận định kết quả theo các kết quả thu được bằng cách tính toán tỷ lệ ARNm gen ung thư/ ARNm gen tham chiếu.

#### **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **SAI SÓT**

##### **XỬ TRÍ**

- Lấy mẫu không đủ hoặc sai chất chống đông.
- Thao tác pipet không chính xác.
- Tín hiệu phản ứng không rõ ràng.
- Thực hiện đúng hướng dẫn qui cách lấy mẫu.
- Sử dụng pipet theo đúng thể tích quy định.
- Bảo quản hóa chất đúng theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Thực hiện đúng, đủ các bước trong quy trình xét nghiệm.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Phạm Hùng Vân (2009). Real-time PCR. PCR và Realtime PCR - các vấn đề cơ bản và các áp dụng thường gặp. Nhà xuất bản y học, trang 60-65.
2. J Gabert et al (2003). Standardization and quality control studies of “real-time” quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - A Europe Against Cancer . Leukemia 17, 2318-2357.

# **XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN SỰ TỒN TẠI CỦA GEN BỆNH BẰNG KỸ THUẬT RT-PCR**

## **DISEASE GENE DETECTION BY REVERSE TRANSCRIPTION POLYMERASE CHAIN REACTION (RT- PCR)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật RT-PCR dựa trên nguyên lý chung của kỹ thuật PCR: sử dụng hoạt tính tổng hợp ADN của enzym Taq-polymerase; cùng với các vật liệu cơ bản gồm các bazơ nitơ tự do (dNTPs), hai đoạn mồi: mồi xuôi (forward primer) và mồi ngược (reverse primer) để nhân bản đoạn gen quan tâm. Do đối tượng cần khuếch đại của kỹ thuật RT-PCR là ARN thông tin vì vậy phản ứng RT-PCR sẽ gồm có 2 bước cơ bản như sau:

**Bước 1 - RT ( reverse transcription - phiên mã ngược):** là bước chuyển đổi ARN sợi khuôn thành sợi ADN bổ trợ (ADNc), được thực hiện bởi enzym phiên mã ngược (reverse transcriptase).

**Bước 2 - PCR:** sử dụng sản phẩm ADNc của bước 1 làm khuôn để thực hiện phản ứng PCR với sự tham gia của cặp mồi đặc hiệu để nhân bản chính xác đoạn gen đích.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này chỉ định cho tất cả các người bệnh mắc bệnh máu do các bất thường gen đặc hiệu.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm sinh học phân tử đã được đào tạo.

#### **2. Phương tiện - Hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

- Máy PCR;
- Hệ thống máy điện di, hệ thống đèn cực tím soi gel, hệ thống máy chụp ảnh;
- Tủ hút hóa chất (chemical fume hood);
- Buồng vô trùng (biology cabinet);
- Máy ly tâm tốc độ cao (tốc độ tối đa 14.000 vòng/phút);

- Máy vortex;
- Các loại pipet 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl;
- Đầu côn có màng lọc;
- Ống eppendorf 1,5 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Ống PCR 0,2 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Tủ lạnh 4-8<sup>0</sup>C, tủ âm sâu -20<sup>0</sup>C;
- Găng tay.

### **3.2. Hóa chất**

- Dung dịch Ficoll hoặc dung dịch ly giải tế bào hồng cầu gồm các muối MgCl<sub>2</sub>, Tris-HCl, NaCl.
- Sử dụng kit tách ARN thương mại. Nếu tách thủ công thì sử dụng các sinh phẩm cần thiết để tách chiết ARN như glycogen, proteinase K, đệm ly giải tế bào, phenol/chloroform, cồn tuyệt đối.
- Hóa chất chạy RT-PCR: kit RT-PCR onestep. Nếu không sử dụng kit thương mại thì sử dụng các thành phần riêng lẻ như: Đệm, MgCl<sub>2</sub>, dNTPs, enzym phiên mã ngược, enzym kéo dài chuỗi, mồi oligodT hoặc mồi ngẫu nhiên (random primer), cặp mồi đặc hiệu, nước khử ion vô trùng.
- Hóa chất điện di: thạch agarose, đệm tra mẫu, thang chuẩn ADN, thuốc nhuộm ethidium bromide.

### **3. Bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi đựng trong ống chống đông EDTA.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Có đầy đủ các thông tin cần thiết về người bệnh, về chẩn đoán và yêu cầu xét nghiệm.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi hoặc dịch tủy xương chống đông bằng EDTA

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **Bước 1: Tách chiết ARN:**

Xem bài “Tách chiết ARN từ máu ngoại vi/tủy xương

#### **Bước 2: Thực hiện phản ứng tổng hợp ADNc (thao tác ở 4<sup>0</sup>C)**

Sử dụng mồi ngẫu nhiên 6 nucleotit (random hexamer primers) và enzym Reverse Transcriptase để chuyển hóa ARN thành ADN thông qua các chu trình nhiệt chuyên biệt.



**Bước 3: Thực hiện phản ứng PCR (thao tác ở 4°C)**

- Đưa các thành phần cần thiết của phản ứng ra nhiệt độ phòng 10 phút để rã đông hoàn toàn.

- Trộn lẫn các thành phần sau vào một ống eppendorf 0,2 ml: master mix (đã bao gồm đệm, dNTPs,  $MgCl_2$ ), cặp mồi cho gen đích, enzym tổng hợp chuỗi, nước khử ion vô trùng, sản phẩm ADNc, được trình bày như bảng dưới đây:

| STT | Sinh phẩm                 | Thành phần ( $\mu$ l)/1 pư |
|-----|---------------------------|----------------------------|
| 1   | Đệm                       | 12,5                       |
| 2   | Sản phẩm ADNc             | 1                          |
| 3   | Mồi xuôi (10pM/ $\mu$ l)  | 1,0                        |
| 4   | Mồi ngược (10pM/ $\mu$ l) | 1,0                        |
| 5   | Enzym                     | 0,5 U                      |
| 5   | H <sub>2</sub> O          | Đủ thể tích 25 $\mu$ l     |
|     | <b>Tổng thể tích</b>      | <b>25,0</b>                |

- Ly tâm nhẹ để các thành phần lắng xuống đáy ống hoàn toàn;
- Đặt vào máy PCR;
- Chọn chương trình;
- Bấm start để máy chạy.

**Bước 4: Điện di sản phẩm PCR****Chuẩn bị gel agarose:**

- Cân agarose cho vào bình đun gel (nồng độ 1% = 1gram/100ml);
- Thêm đệm TBE 1X hoặc TAE 1X vào bình, lắc đều;
- Đun sôi đến agarose tan hoàn toàn;
- Để ấm đến 60°C rồi đổ vào khay gel;
- Để nhiệt độ phòng 30 phút để gel ổn định.

**Điện di:**

- Đặt gel vào khay điện di, đổ đầy đệm chạy và rút lược từ từ ra khỏi gel để tránh vỡ giếng;

- Chuẩn bị hỗn hợp: 5 $\mu$ l sản phẩm PCR + 1  $\mu$ l loading dye 10X + 4  $\mu$ l dH<sub>2</sub>O;

- Trộn đều và bơm vào các giếng theo thứ tự đã đánh dấu;
- Sử dụng 3  $\mu$ l ADN ladder để làm thang tính toán kích thước sản phẩm;

- Điện di trong khoảng 30-40 phút, 110V;
- Nhuộm bản gel với dung dịch Ethidium bromide trong 5 phút và soi, chụp ảnh trên đèn soi gel UV.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Kết quả dương tính nếu nhìn thấy vạch sáng dưới đèn UV, sản phẩm có kích thước phù hợp theo lý thuyết .

Trong trường hợp sản phẩm PCR có băng không rõ ràng, nhiều băng không đặc hiệu hoặc đối chứng không chính xác thì phải lặp lại xét nghiệm.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **SAI SÓT**

- Lấy mẫu không đủ hoặc sai chất chống đông.
- Thao tác pipet không chính xác.
- Tín hiệu phản ứng không rõ ràng.

### **XỬ TRÍ**

- Thực hiện theo đúng hướng dẫn qui cách lấy mẫu.
- Sử dụng pipet theo đúng thể tích quy định.
- Bảo quản hóa chất đúng theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Thực hiện đúng, đủ các bước trong quy trình xét nghiệm.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Hồ Huỳnh Thủy Dương (1997). Các phương pháp tách chiết axit nucleic. Sinh học phân tử. NXB Giáo Dục, trang 124-125.
2. A.Rolfs et al (1992). PCR:Clinical Diagnosis and Research. Springer Verlag, Berlin.
3. van Dongen JJ, Macintyre EA, Gabert JA, et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Leukemia 1999;13,1901-28.

# **PHÁT HIỆN GEN JAK2 V617F BẰNG KỸ THUẬT AS-PCR**

## **DETECTION OF JAK2 V617F GENE MUTATION BY AS-PCR**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Phát hiện đột biến JAK2 V617F (Janus Kinase Valin 617 Phenylalamin) trong các mẫu bệnh phẩm của người mắc hội chứng tăng sinh tủy mạn để góp phần chẩn đoán, xếp loại các bệnh đa hồng cầu nguyên phát, tăng tiểu cầu tiên phát, xơ tủy nguyên phát phục vụ cho điều trị bệnh.

Đột biến JAK2 V617F được phát hiện bằng kỹ thuật Allen-specific PCR (AS-PCR). Trong Allen-specific PCR (AS-PCR) người ta thiết kế một đoạn primer có trình tự sai khác so với trình tự đặc hiệu một nucleotide ở đầu 3' để ngăn cản quá trình kéo dài chuỗi ADN của enzym Taq-polymeraza trong phản ứng PCR. Trong phương pháp này, người ta thiết kế hai ống phản PCR song song: ống phản thứ nhất sử dụng cặp primer đặc hiệu cho allen bình thường, ống phản ứng thứ hai sử dụng cặp primer để nhân bản allen đột biến. Phản ứng AS-PCR luôn có ít nhất một sản phẩm: nếu người bệnh dị hợp tử thì trong hai ống phản ứng PCR đều có một băng sản phẩm đặc hiệu, nếu người bệnh đồng hợp tử mang gen bệnh thì chỉ có ống phản ứng 2 có băng đặc hiệu, còn người bệnh đồng hợp tử bình thường thì chỉ ống phản ứng 1 có băng sản phẩm đặc hiệu.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này được chỉ định cho tất cả các người bệnh thuộc hội chứng tăng sinh tủy mạn.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm sinh học phân tử đã được đào tạo.

#### **2. Phương tiện - Hóa chất**

##### **2.1 Phương tiện**

- Máy PCR
- Hệ thống máy điện di, hệ thống đèn cực tím soi gel, hệ thống máy chụp ảnh.
- Buồng vô trùng (biology cabinet).
- Máy ly tâm tốc độ cao (tốc độ tối đa 14.000 vòng/phút).

- Máy vortex.
- Các loại pipet 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl.
- Đầu côn có màng lọc.
- Ống eppendorf 1,5 ml vô trùng, không có enzym nucleaza.
- Ống PCR 0,2 ml vô trùng, không có enzym nucleaza.
- Tủ lạnh 4-8°C, tủ âm sâu -20°C.
- Găng tay.

## 2.2 Hóa chất

- Sử dụng kit tách ADN thương mại. Nếu tách thủ công thì sử dụng các sinh phẩm cần thiết để tách chiết ADN như proteinase K, đệm ly giải tế bào, phenol/chloroform, cồn tuyệt đối.

- Hóa chất chạy PCR gồm: Đệm, MgCl<sub>2</sub>, dNTPs, enzym kéo dài chuỗi, nước khử ion vô trùng, các cặp mồi đặc hiệu.

- Hóa chất điện di: thạch agarose, đệm tra mẫu, thang chuẩn ADN, thuốc nhuộm ethidium bromide.

## 3. Bệnh phẩm

2 ml máu ngoại vi đựng trong ống chống đông EDTA.

## 4. Phiếu xét nghiệm

Có đầy đủ các thông tin cần thiết về người bệnh, về chẩn đoán và yêu cầu xét nghiệm.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

2 ml máu toàn phần đựng trong ống chống đông EDTA.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### Bước 1: Tách chiết ADN

Xem bài “Tách chiết ADN từ máu ngoại vi”.

#### Bước 2: Thực hiện phản ứng AS-PCR

- Đưa các thành phần cần thiết của phản ứng ra nhiệt độ phòng 10 phút để rã đông hoàn toàn.

- Trộn lẫn các thành phần sau vào một ống 0,2 ml:

| Sinh phẩm                | Số lượng (µl) |
|--------------------------|---------------|
| Buffer 10X               | 2,5           |
| dNTPs (500µM)            | 2             |
| MgCl <sub>2</sub> (25mM) | 2             |

|                                 |           |
|---------------------------------|-----------|
| Primer F( bình thường/đột biến) | 1         |
| Primer R( bình thường/đột biến) | 1         |
| Enzym Taq                       | 0,5       |
| Nuclease free H <sub>2</sub> O  | 25 - x    |
| ADN khuôn (100 ng)              | X         |
| <b>Tổng thể tích</b>            | <b>25</b> |

(x: thể tích ADN đạt nồng độ 100 ng)

- Ly tâm nhẹ để các thành phần lắng xuống đáy ống hoàn toàn
- Đặt vào máy PCR
- Chọn chương trình
- Bấm start để máy chạy.

### Bước 3: Điện di sản phẩm PCR

#### Chuẩn bị gel agarose:

- Cân 1 g agarose cho vào bình thủy tinh chịu nhiệt.
- Thêm 100 ml đệm điện di (TAE 1X /TBE 1X...) vào bình, lắc đều.
- Đun mỗi lần 1 phút trong lò vi sóng đến khi agarose tan hoàn toàn.
- Để ấm đến 60<sup>0</sup> rồi đổ vào khay đã cắm lược.
- Để nhiệt độ phòng 30 phút để thạch đông rồi mới rút lược ra.

#### Điện di:

- Lấy 5 µl sản phẩm PCR + 1 µl đệm tra mẫu 6X + 4 µl dH<sub>2</sub>O
- Trộn đều và nhỏ vào các giếng theo thứ tự
- Nhỏ 3 µl marker ADN vào giếng kế tiếp
- Đặt bản gel vào máy điện di
- Đổ đệm điện di ngập bản gel và chạy ở 100 V trong 20 phút
- Nhuộm bản gel với dung dịch ethidium bromide trong 5 phút

### VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Kết quả dương tính nếu nhìn thấy vạch sáng dưới đèn UV, sản phẩm có kích thước phù hợp theo lý thuyết.

### VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### SAI SÓT

- Lấy mẫu không đủ hoặc sai chất chống đông.
- Thao tác pipet không chính xác.

#### XỬ TRÍ

- Thực hiện theo đúng hướng dẫn qui cách lấy mẫu.
- Sử dụng pipet theo đúng thể tích quy định.

- Tín hiệu phản ứng không rõ ràng.
- Bảo quản hóa chất đúng theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Thực hiện đúng, đủ các bước trong quy trình xét nghiệm.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. A.Rolfs et al (1992). PCR: Clinical Diagnosis and Research. Springer Verlag, Berlin.
2. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. Lancet 2005; 365:1054-61.

# **XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN BẰNG KỸ THUẬT MULTIPLEX PCR**

**(Phát hiện cùng lúc nhiều đột biến)**

## **MULTIPLE GENE MUTATIONS DETECTION BY MULTIPLEX PCR**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Phản ứng tổng hợp chuỗi (PCR) là phản ứng cho phép nhân bản chính xác một trình tự ADN quan tâm lên hàng triệu lần. Sử dụng phương pháp PCR thông thường với một cặp mồi đặc trưng chỉ phát hiện được một đột biến. Để phát hiện nhiều hơn một đột biến sẽ phải làm nhiều xét nghiệm PCR. Vì vậy, trong trường hợp bệnh do nhiều đột biến và cần xác định các đột biến này thì nên sử dụng kỹ Multiplex PCR. Đây là phương pháp sử dụng nhiều cặp mồi trong cùng một phản ứng PCR cho phép phát hiện được đồng thời nhiều đột biến.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này được chỉ định cho tất cả các người bệnh mắc bệnh máu do các đột biến gen.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên xét nghiệm Sinh học phân tử đã được đào tạo.

#### **2. Phương tiện - Hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

- Máy PCR;
- Hệ thống máy điện di, hệ thống đèn cực tím soi gel, hệ thống máy chụp ảnh;
- Buồng vô trùng (biology cabinet);
- Máy ly tâm tốc độ cao (tốc độ tối đa 14.000 vòng/phút);
- Máy vortex;
- Các loại pipet 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl;
- Đầu côn có màng lọc;
- Ống eppendorf 1,5 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Ống PCR 0,2 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Tủ lạnh 4-8°C, tủ âm sâu -20°C;

- Găng tay.

## **2.2. Hóa chất**

- Kit tách ADN thương mại hoặc các hóa chất cần thiết cho tách chiết thủ công ADN (proteinase K, đệm ly giải tế bào, phenol/chloroform, cồn tuyệt đối).
- Hóa chất chạy PCR gồm: Đệm,  $MgCl_2$ , dNTPs, enzym kéo dài chuỗi, nước khử ion vô trùng.
- Các cặp mồi đặc hiệu cho các đột biến cần xác định và 1 cặp mồi sử dụng làm chứng nội kiểm (Internal control).
- Thạch agarose, đệm tra mẫu, thang chuẩn ADN.
- Thuốc nhuộm ethidium bromide.

## **3. Bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi đựng trong ống chống đông EDTA.

## **4. Phiếu xét nghiệm**

Có đầy đủ các thông tin cần thiết về người bệnh, về chẩn đoán và yêu cầu xét nghiệm.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi chống đông bằng EDTA.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### ***Bước 1. Tách chiết ADN***

Xem bài “Tách chiết ADN từ máu ngoại vi”

#### ***Bước 2. Thực hiện phản ứng Multiplex PCR***

- Đưa các thành phần cần thiết của phản ứng ra nhiệt độ phòng 10 phút để rã đông hoàn toàn.

- Trộn lẫn các thành phần sau vào một ống 0,2 ml: Buffer, dNTPs,  $MgCl_2$  (nếu trong Buffer chưa có), hỗn hợp mồi (gồm các cặp mồi phát hiện đột biến được trộn theo tỷ lệ nhất định), enzym Taq polymerase, nước khử ion vô trùng, ADN khuôn.

- Ly tâm nhẹ để các thành phần lắng xuống đáy ống hoàn toàn.
- Đặt vào máy PCR.
- Chọn chương trình.
- Bấm start để máy chạy.

#### ***Bước 3: Điện di sản phẩm PCR***

**Chuẩn bị gel agarose:**



- Cân 1 g agarose cho vào bình thủy tinh chịu nhiệt.
- Thêm 100 ml đệm điện di (TAE 1X /TBE 1X...) vào bình, lắc đều.
- Đun mỗi lần 1 phút trong lò vi sóng đến khi agarose tan hoàn toàn.
- Để ấm đến 60<sup>0</sup> rồi đổ vào khay đã cắm lược.
- Để nhiệt độ phòng 30 phút để thạch đông rồi mới rút lược ra.

#### **Điện di:**

- Lấy 5 µl sản phẩm PCR + 1 µl đệm tra mẫu + 4 µl dH<sub>2</sub>O
- Trộn đều và nhỏ vào các giếng theo thứ tự
- Nhỏ 3 µl marker ADN vào giếng kế tiếp
- Đặt bản gel vào máy điện di
- Đổ đệm điện di ngập bản gel và chạy ở 100 V trong 20 phút
- Nhuộm bản gel với dung dịch ethidium bromide trong 5 phút

### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Kết quả dương tính nếu nhìn thấy vạch sáng dưới đèn UV, sản phẩm có kích thước phù hợp theo lý thuyết.

### **VII . NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

#### **SAI SÓT**

- Lấy mẫu không đủ hoặc sai chất chống đông.
- Thao tác pipet không chính xác.
- Tín hiệu phản ứng không rõ ràng.

#### **XỬ TRÍ**

- Thực hiện theo đúng hướng dẫn qui cách lấy mẫu.
- Sử dụng pipet theo đúng thể tích quy định.
- Bảo quản hóa chất đúng theo khuyến cáo của nhà sản xuất
- Thực hiện đúng, đủ các bước trong quy trình xét nghiệm.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Hồ Huỳnh Thuỳ Dương (1997). Các phương pháp tách chiết axit nucleic. Sinh học phân tử. NXB Giáo Dục, trang 124-125.
2. A.Rolfs et al (1992). PCR:Clinical Diagnosis and Research. Springer Verlag, Berlin.

# **ĐỊNH LƯỢNG VIRUS CYTOMEGALO (CMV) BẰNG KỸ THUẬT REAL-TIME PCR**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Sử dụng kỹ thuật PCR để nhân bản một đoạn gen đặc trưng của virus CMV kết hợp với việc bổ sung taqman probe - là một chất phát huỳnh quang vào phản ứng PCR. Dựa vào sự kiểm soát số lượng huỳnh quang tiêu tốn trong phản ứng cùng với các chuẩn ADN-CMV đã biết trước nồng độ, phần mềm của hệ thống sẽ tính toán và đếm được số lượng bản sao virus CMV ban đầu có trong mẫu bệnh phẩm.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này chỉ định cho tất cả các người bệnh có biểu hiện nhiễm trùng sau ghép.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên xét nghiệm sinh học phân tử đã được đào tạo.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Hệ thống máy real-time PCR;
- Tủ hút hóa chất (chemical fume hood);
- Buồng vô trùng (biology cabinet);
- Máy ly tâm tốc độ cao (tốc độ tối đa 14.000 vòng/phút);
- Máy vortex;
- Các loại pipet 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl;
- Đầu côn có màng lọc;
- Ống eppendorf 1,5 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Ống PCR 0,2 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Tủ lạnh 4-8°C, tủ âm sâu -20°C;
- Găng tay.

#### **2.2 Hóa chất**

- Sử dụng kit tách ADN thương mại. Nếu tách thủ công thì sử dụng các sinh phẩm cần thiết để tách chiết ADN như proteinase K, đệm ly giải tế bào, phenol/chloroform, cồn tuyệt đối.

- Kit định lượng CMV thương mại hoặc các hóa chất cần thiết cho phản ứng real-time PCR như probe, primer, dNTPs, enzym, các mẫu ADN chuẩn.

### **3. Bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi đựng trong ống chống đông EDTA.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Có đầy đủ các thông tin cần thiết về người bệnh, về chẩn đoán và yêu cầu xét nghiệm.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

2 ml máu ngoại vi chống đông bằng EDTA.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **Bước 1: Tách chiết ADN**

Xem bài “Tách chiết ADN từ máu ngoại vi”

#### **Bước 2: Thực hiện phản ứng Real-time PCR**

##### Chuẩn bị các mẫu chuẩn:

Để định lượng phải có tối thiểu 3 mẫu chuẩn (mẫu chuẩn là các mẫu ADN đích đã biết trước nồng độ, thường sử dụng mẫu chuẩn ở 3 độ pha loãng liên tiếp) và một mẫu đối chứng âm để kiểm soát ngoại nhiễm ((thường sử dụng H<sub>2</sub>O đã khử các enzym phân hủy ADN và ARN hoặc đệm Tris- EDTA 1M, pH=7,5).

##### Chuẩn bị phản ứng:

- Ghi tên các ống theo thứ tự.
- Mỗi ống phản ứng bổ sung đủ các thành phần phản ứng:
  - + Mẫu ADN + master mix theo nồng độ khuyến cáo (nếu sử dụng kit định lượng chế tạo sẵn).
  - + Mẫu ADN+ buffer+ enzym+ primer+ probe theo đúng nồng độ đã tối ưu (nếu sử dụng các thành phần riêng lẻ).
- Đặt các ống phản ứng vào các vị trí trên máy.

##### Chuẩn bị chương trình trên máy

- Cài đặt sơ đồ giếng theo đúng các vị trí ống đã đặt trên máy, nhập thông tin mẫu và các nồng độ mẫu chuẩn theo đúng yêu cầu, chọn kênh màu huỳnh quang tương thích.

- Cài đặt chương trình chạy theo chế độ luân nhiệt khuyến cáo của kit hoặc chế độ luân nhiệt đã tối ưu được.

- Chọn vị trí lưu kết quả sau khi kết thúc chương trình chạy.

- Bấm start để bắt đầu chạy theo chương trình đã chọn.

### **Bước 3: Phân tích kết quả**

- Sau khi kết thúc chương trình chạy, tất cả các kết quả được hiển thị lên màn hình.

- Kiểm tra các đường chuẩn và mẫu đối chứng âm trước.

+ Nếu đạt yêu cầu (theo hướng dẫn của kit sử dụng hoặc theo kết quả lý thuyết đã tối ưu) thì tiếp tục phân tích các mẫu khác theo kết quả thu được.

+ Nếu không đạt yêu cầu (mẫu chuẩn không có tín hiệu huỳnh quang, mẫu đối chứng âm bị nhiễm thành dương tính....) thì không đủ cơ sở để phân tích các mẫu khác. Trong trường hợp này phải lặp lại xét nghiệm sau khi đã tìm ra nguyên nhân sai sót ở xét nghiệm trước.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Số lượng virus CMV được hiển thị lên màn hình sau khi chạy, chú ý nhân với hệ số pha loãng mẫu nếu trước đó có pha loãng mẫu để chạy.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **SAI SÓT**

### **XỬ TRÍ**

- |                                              |                                                           |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| ▪ Lấy mẫu không đủ hoặc sai chất chống đông. | ▪ Thực hiện theo đúng hướng dẫn qui cách lấy mẫu.         |
| ▪ Thao tác pipet không chính xác.            | ▪ Sử dụng pipet theo đúng thể tích quy định.              |
| ▪ Tín hiệu phản ứng không rõ ràng.           | ▪ Bảo quản hóa chất đúng theo khuyến cáo của nhà sản xuất |
|                                              | ▪ Thực hiện đúng, đủ các bước trong quy trình xét nghiệm. |

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Phạm Hùng Vân (2009). Real-time PCR. PCR và Realtime PCR - các vấn đề cơ bản và các áp dụng thường gặp. Nhà xuất bản y học, trang 60-65.
2. A.Rolfs et al (1992). PCR:Clinical Diagnosis and Research. Springer Verlag, Berlin.

**PHÁT HIỆN ĐẢO ĐOẠN INTRON 22 CỦA GEN YẾU TỐ VIII BỆNH  
HEMOPHILIA BẰNG KỸ THUẬT LONG-RANGE PCR  
DETECTION OF INTRON 22 INVERSION OF FACTOR VIII GENE IN  
HEMOPHILIA BY LONG-RANGE PCR**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Hemophilia A là một bệnh rối loạn đông máu , nguyên nhân là do các đột biến trên gen mã hóa yếu tố VIII. Khoảng 50% người bệnh hemophilia A thể nặng là do đảo đoạn intron 22 của gen yếu tố VIII. Đảo đoạn này xuất hiện do sự tái tổ hợp giữa vùng 5' của gen yếu tố VIII (int22h1) với vùng lặp lại (vùng tương đồng) ở phần cuối cùng trên cánh dài của NST X (int22h2 (proximal) hoặc int22h3 (distal)). Kỹ thuật Longrange PCR với sự kết hợp của hai loại enzym: enzym đọc sửa và enzym có hoạt tính tổng hợp đoạn ADN lớn cho phép khuếch đại các vùng ADN tái tổ hợp này tạo ra sản phẩm PCR có kích thước 10-12kb. Sản phẩm PCR này được phát hiện khi điện di trên agarose và đọc trên hệ thống đọc gel.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Xét nghiệm này chỉ định cho tất cả các người bệnh mắc bệnh Hemophilia A thể nặng.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Kỹ thuật viên xét nghiệm sinh học phân tử đã được đào tạo

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy PCR;
- Hệ thống máy điện di, hệ thống đèn cực tím soi gel, hệ thống máy chụp ảnh;
- Buồng vô trùng (biology cabinet);
- Máy ly tâm tốc độ cao (tốc độ tối đa 14.000 vòng/phút);
- Máy vortex;
- Các loại pipet 10  $\mu$ l, 20  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 200  $\mu$ l, 1000  $\mu$ l;
- Đầu côn có màng lọc;

- Ống eppendorf 1,5 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Ống PCR 0,2 ml vô trùng, không có enzym nucleaza;
- Tủ lạnh 4-8°C, tủ âm sâu -20°C;
- Găng tay.

## 2.2 Hóa chất

- Sử dụng kit tách ADN thương mại. Nếu tách thủ công thì sử dụng các sinh phẩm cần thiết để tách chiết ADN như proteinase K, đệm ly giải tế bào, phenol/chloroform, cồn tuyệt đối.

- Hóa chất chạy Longrange PCR gồm: Kit LongRange PCR, MgCl<sub>2</sub>, dNTPs, 7-deaza-dGTP, DMSO, enzym kéo dài chuỗi, nước khử ion vô trùng, các cặp mồi đặc hiệu, theo bảng sau:

|   |                                                       |
|---|-------------------------------------------------------|
| P | 5'GCCCTGCCTGTCCATTACACTGATGACATTATGCTGAC3'(38-mer)    |
| Q | 5'GGCCCTACAACCATTCTGCCTTTCACCTTTCAGTGCAATA 3'(3- mer) |
| A | 5'CACAAGGGGGAAGAGTGTGAGGGTGTGGGATAAGAA 3' (36-mer)    |
| B | 5'CCCCAAACTATAACCAGCACCTTGAACCTCCCCTCTCATA3'(40-mer)  |

- Hóa chất điện di: thạch agarose, đệm tra mẫu, thang chuẩn ADN, thuốc nhuộm ethidium bromide.

## 3. Bệnh phẩm

2 ml máu ngoại vi đựng trong ống chống đông EDTA.

## 4. Phiếu xét nghiệm

Có đầy đủ các thông tin cần thiết về người bệnh, về chẩn đoán và yêu cầu xét nghiệm.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

2 ml máu ngoại vi chống đông bằng EDTA.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### Bước 1: Tách chiết ADN

Xem bài “Tách chiết ADN từ máu ngoại vi”.

#### Bước 2: Thực hiện phản ứng Long-range PCR

- Ghi tên các ống phản ứng.  
 - Pha 2 master mix PCR trong box vô trùng tại phòng tiền PCR theo bảng sau:

+ Master mix1 (MM1):

| Thành phần           | Thể tích |
|----------------------|----------|
| dATP(10mM)           | 1,25µl   |
| dCTP(10mM)           | 1,25µl   |
| dTTP (10mM)          | 1,25µl   |
| dGTP (10mM)          | 0,625µl  |
| 7-deaza-dGTP (10mM)  | 0,625µl  |
| Oligo-P (10pmoles/ ) | 0,5µl    |
| Oligo-Q (10pmoles/ ) | 0,5µl    |
| Oligo-A (10pmoles/ ) | 0,2µl    |
| Oligo-B (10pmoles/ ) | 0,2µl    |
| 10X buffer           | 2,0µl    |
| DMSO                 | 0,4µl    |

+ Master mix 2 (MM2)

|                                   |       |
|-----------------------------------|-------|
| Longrange PCR enzym mix (5UI/ µl) | 0,5µl |
| 10X longrange PCR buffer          | 0,5µl |
| Nước cất                          | 4,0µl |

- Trộn đều các ống master mix, ly tâm nhẹ để dung dịch xuống đáy ống hoàn toàn;

- Chia 8.8µl MM1 vào các ống PCR 0.2ml đã chuẩn bị;  
 - Bổ sung 10-20ng ADN mẫu và chúng cùng với nước khử ion vô trùng cho đủ thể tích ống phản ứng là 20µl;

- Chạy PCR: Đặt ống phản ứng vào máy PCR, ấn start đợi khi máy đã chạy xong chu kỳ biến tính lần đầu ở 95°C/30s. Ấn “Pause”;

- Mở nắp ống phản ứng, bổ sung 5µl MM2 vào mỗi tube và trộn đều bằng pipet. Ấn “Resume”.

### Bước 3: Điện di kiểm tra sản phẩm Longrange PCR

#### Chuẩn bị gel agarose;

- Cân 0.5 g agarose cho vào bình thủy tinh chịu nhiệt;
- Thêm 100 ml đệm điện di (TAE 1X /TBE 1X...) vào bình, lắc đều;
- Đun mỗi lần 1 phút trong lò vi sóng đến khi agarose tan hoàn toàn;
- Để ấm đến 60° rồi đổ vào khay đã cắm lược;
- Để nhiệt độ phòng 30 phút để thạch đông rồi mới rút lược ra.

#### Điện di:

- Lấy 5 µl sản phẩm PCR + 1 µl đệm tra mẫu + 4 µl dH<sub>2</sub>O;

- Trộn đều và nhỏ vào các giếng theo thứ tự;
- Nhỏ 3 µl marker ADN vào giếng kế tiếp;
- Đặt bản gel vào máy điện di;
- Đồ đệm điện di ngập bản gel và chạy ở hiệu điện thế 90volt/1 giờ, kiểm tra bằng, nếu có chạy tiếp ít nhất 12 giờ (có thể chạy tới 21 giờ). Nếu không thấy có băng dừng chạy làm lại phản ứng PCR;
- Nhuộm bản gel với dung dịch ethidium bromide trong 5 phút;
- Chụp ảnh gel, in ảnh và dán vào worksheet.

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

**Trên hình ảnh điện di:**

- Mẫu không có đảo đoạn sẽ có 02 băng ADN: 10kb, 12kb;
- Mẫu nam có đảo đoạn sẽ có 02 băng ADN: 10kb, 11kb;
- Mẫu nữ có đảo đoạn dị hợp tử có 03 băng ADN: 10kb, 11kb, 12kb.

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### SAI SÓT

- Lấy mẫu không đủ hoặc sai chất chống đông.
- Thao tác pipet không chính xác.
- Tín hiệu phản ứng không rõ ràng.

### XỬ TRÍ

- Thực hiện đúng hướng dẫn qui cách lấy mẫu.
- Sử dụng pipet theo đúng thể tích quy định.
- Bảo quản hóa chất đúng theo khuyến cáo của nhà sản xuất  
Thực hiện đúng, đủ các bước trong quy trình xét nghiệm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. D J Bowen. *Haemophilia A and Haemophilia B: molecular insights*. J Clin Pathol: Mol Pathol 2002; 55:1-8.
2. Keeney S et al. *The molecular analysis of haemophilia A: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organization Haemophilia Genetics Laboratory Network*. Haemophilia 2005; 11: 387-97.



## **CHƯƠNG IV. TRUYỀN MÁU (Blood Transfusion)**

### **XÉT NGHIỆM HÒA HỢP MIỄN DỊCH PHÁT MÁU Ở 22°C**

**(Kỹ thuật gelcard/Scangel)**

**(Gelcard/ scangel technique for compatibility testing at 22°C)**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Xét nghiệm hòa hợp miễn dịch phát máu ở 22°C có nguyên lý của phản ứng ngưng kết và được sử dụng để phát hiện các kháng thể có trong huyết thanh của người nhận hoặc người cho mà các kháng thể này có khả năng gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của người cho hoặc người nhận trong môi trường nước muối ở 22°C và gây tan máu trong lòng mạch [1], [2], [3].

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

*Xét nghiệm hòa hợp miễn dịch phát máu ở 22 °C được chỉ định trong những trường hợp sau:*

- Truyền máu toàn phần, khối hồng cầu còn nhiều huyết tương, khối bạch cầu;
- Truyền khối hồng cầu còn ít hoặc không còn huyết tương;
- Truyền chế phẩm tiểu cầu, huyết tương.

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

##### **2. Phương tiện – Hóa chất**

###### **2.1. Trang thiết bị**

Máy ủ gelcard chuyên dụng; Máy ly tâm gelcard chuyên dụng; Máy ly tâm ống thẳng có số vòng và thời gian chính xác để ly tâm ống máu; Tủ lạnh đựng sinh phẩm...

###### **2.2. Dụng cụ**

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Bút marker; Pipet nhựa; Pipet tự động; Đầu côn các loại; Hộp đựng đầu côn; Giá đỡ gelcard.

###### **2.3. Thuốc thử và hoá chất**

- Dung dịch Liss; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất.

- Tấm gelcard nước muối.

#### **2.4. Mẫu máu để làm phản ứng hòa hợp**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

#### **2.5. Vật tư tiêu hao**

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm định nhóm máu; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

**3. Thời gian làm xét nghiệm:** 60 phút

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu truyền máu, chế phẩm,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu và phiếu yêu cầu truyền máu. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**2. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm.

#### **3. Tiến hành kỹ thuật [4]**

- **Bước 1:** Mang dung dịch LISS được bảo quản trong tủ lạnh về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng;

- **Bước 2:** Chuẩn bị hồng cầu người cho và/hoặc người nhận 0,8% (10 µl hồng cầu khối và 1ml dung dịch LISS), dịch treo hồng cầu sau khi pha phải được sử dụng để làm xét nghiệm ngay; Ly tâm ống máu không chống đông để tách huyết thanh;

- **Bước 3:** Ghi nhãn vào vị trí từng cột gel trên tấm gelcard họ và tên người nhận, mã số (nếu có), số giường, khoa, phòng... và mã số, thành phần của đơn vị máu, chế phẩm.

- **Bước 4:** Mở tấm bảo vệ phủ trên cột gel theo đúng quy định;

- **Bước 5:** Nhỏ 50 µl dung dịch hồng cầu 0,8% của người cho đã được chuẩn bị ở trên vào các cột gel thích hợp đã được ghi nhãn;

- **Bước 6:** Thêm 25 µl huyết thanh hoặc huyết tương của người bệnh và người cho vào các cột gel tương ứng;

- **Bước 7:** Ủ tấm gelcard trên 15 phút ở nhiệt độ phòng;

- **Bước 8:** Sau ủ, ly tâm 10 phút ở máy ly tâm gelcard chuyên dụng;

- **Bước 9:** Lấy gelcard ra khỏi máy ly tâm;

- **Bước 10:** Đọc kết quả trên máy đọc gelcard và lưu giữ kết quả bằng phần mềm máy tính;

### **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

## **1. Kết quả xét nghiệm hòa hợp phát máu ở 22°C âm tính**

Máu của người cho và người bệnh là hòa hợp; Kết hợp với kết quả xác định nhóm hệ ABO, Rh D và kết quả xét nghiệm hòa hợp miễn dịch phát máu có sử dụng kháng globulin người để quyết định phát máu và chế phẩm cho các khoa lâm sàng để truyền cho người bệnh.

## **2. Kết quả xét nghiệm hòa hợp phát máu ở 22°C dương tính**

Máu của người cho và người bệnh là không hòa hợp; Lặp lại xét nghiệm với một đơn vị máu khác và kết hợp với kết quả xác định nhóm hệ ABO, Rh D và kết quả xét nghiệm hòa hợp miễn dịch phát máu có sử dụng kháng globulin người để quyết định có hoặc không phát máu và chế phẩm cho các khoa lâm sàng để truyền cho người bệnh.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm**

- Thực hiện kiểm chứng theo quy định của thông tư 26/ 2013/TT- BYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu [5].
- Đọc kỹ và tuân thủ đúng các bước tiến hành kỹ thuật theo hướng dẫn của nhà sản xuất sinh phẩm mà hiện đơn vị đang sử dụng;

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Đỗ Trung Phần (2013), Kỹ thuật xét nghiệm huyết học và truyền máu ứng dụng trong lâm sàng (Tái bản lần 2), Nhà xuất bản y học năm 2013.
3. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
4. Hướng dẫn sử dụng gelcard nước muối (Neutral Gel Card).
5. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **NGHIỆM PHÁP COOMBS TRỰC TIẾP**

## **(Dirrect antiglobulin test)**

### **(Phương pháp ống nghiệm)**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý của nghiệm pháp Coombs trực tiếp (Nghiệm pháp kháng globulin trực tiếp) là sử dụng thuốc thử kháng  $\gamma$  globulin người (huyết thanh Coombs) để xác định sự có mặt của các kháng thể miễn dịch (Bao gồm các kháng thể và thành phần bổ thể là globulin) đã cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu người bệnh [1].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

- Thiếu máu tan máu tự miễn, bệnh hệ thống;
- Bệnh tan máu ở trẻ sơ sinh do bất đồng nhóm máu mẹ con;
- Phản ứng tan máu do truyền máu không hòa hợp nhóm máu giữa người cho và người nhận.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, kỹ thuật viên, điều dưỡng.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1 Phương tiện**

##### **2.1.1. Trang thiết bị**

Máy ly tâm loại thông thường; Kính hiển vi, Bình cách thủy, tủ lạnh.

##### **2.2. Dụng cụ:**

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Cốc thủy tinh có mỏ loại 500 ml; Bút marker; Pipet nhựa.

##### **2.3 Vật tư tiêu hao**

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

##### **2.2. Thuốc thử và hoá chất**

Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất, Hồng cầu chứng; Kháng  $\gamma$  globulin người; dung dịch LISS.

### **3. Mẫu bệnh phẩm**

1 ống máu chống đông (bằng EDTA) của người bệnh: 2 ml.

**4. Thời gian làm xét nghiệm:** 60 phút

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị đầy đủ dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm** trước khi tiến hành xét nghiệm.

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xét nghiệm** của lâm sàng, kiểm tra và đối chiếu các thông tin của người bệnh trên ống máu và phiếu xét nghiệm.

**3. Tiến hành kỹ thuật [2]**

- **Bước 1:** Chuẩn bị một ống nghiệm sạch, khô và ghi nhãn họ và tên hoặc mã số của người bệnh; Nhỏ 0,5 ml hồng cầu khối của người bệnh vào ống nghiệm, rửa 3 lần bằng nước muối sinh lý 0,9%.

- **Bước 2:** Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 5% (1giọt hồng cầu khối của người bệnh và 19 giọt nước muối sinh lý 0,9%, trộn đều); Kiểm tra hồng cầu xem có hiện tượng tự ngưng kết không?

- **Bước 3:** Nhỏ 1 giọt hồng cầu 5% của người bệnh vào ống nghiệm đã ghi nhãn ở trên;

- **Bước 4:** Thêm 2 giọt huyết thanh Coombs vào ống nghiệm trên, trộn đều.

- **Bước 5:** Ly tâm 1000 vòng trong 20 giây;

- **Bước 6:** Với những ống nghiệm cho kết quả âm tính nhỏ 1 giọt hồng cầu chứng, ly tâm 1000 vòng/phút x 15-30 giây. Đọc và ghi lại kết quả vào phiếu xét nghiệm. Phản ứng phải cho kết quả ngưng kết từ 2+ đến 3+. Nếu những ống nghiệm sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà không ngưng kết thì phải lặp lại xét nghiệm từ đầu.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Nghiệm pháp Coombs trực tiếp âm tính: Không có kháng thể miễn dịch, tự miễn trên bề mặt hồng cầu.

- Nghiệm pháp Coombs trực tiếp dương tính: Có kháng thể miễn dịch, tự miễn trên bề mặt hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm**

- Thực hiện kiểm chứng theo quy định của thông tư 26/ 2013/TT- BYT về “Hướng dẫn hoạt động truyền máu” [3];

- Đọc kỹ và tuân thủ đúng các bước tiến hành kỹ thuật theo hướng dẫn của nhà sản xuất sinh phẩm mà hiện đang được sử dụng;

- Thực hiện xét nghiệm Coombs trực tiếp sớm sau khi lấy mẫu máu;
- Nếu kết quả đọc bằng mắt thường không rõ ràng cần đọc dưới kính hiển vi ánh sáng thường.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fifth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Máu và các sản phẩm máu an toàn, quyển 3 Huyết thanh học nhóm máu, Tài liệu dịch, năm 2011.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# NGHIỆM PHÁP COOMBS GIÁN TIẾP

(Phương pháp ống nghiệm)

(Indirect antiglobulin test)

## I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý của nghiệm pháp Coombs gián tiếp (Nghiệm pháp kháng globulin gián tiếp) là sử dụng huyết thanh kháng  $\gamma$  globulin người (huyết thanh Coombs) để xác định sự có mặt của các kháng thể miễn dịch (Bao gồm các kháng thể hoặc thành phần bổ thể là globulin) có tự do trong huyết thanh của người bệnh [1].

## II. CHỈ ĐỊNH

- Thiếu máu tan máu tự miễn, bệnh hệ thống;
- Xét nghiệm hòa hợp có sử dụng kháng globulin người;
- Sàng lọc kháng thể bất thường;
- Định danh kháng thể bất thường;
- Bệnh tan máu ở trẻ sơ sinh do bất đồng nhóm máu mẹ con;
- Định nhóm kháng nguyên của các hệ nhóm máu hồng cầu.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

#### 2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao để làm nghiệm pháp Coombs trực tiếp;

#### 2.2. Thuốc thử và hoá chất

Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất, Hồng cầu nhóm O để cảm nhiễm; Hồng cầu chứng; Thuốc thử kháng globulin; dung dịch LISS.

#### 2.3. Mẫu bệnh phẩm:

- Ống máu chống đông bằng EDTA: 2 ml.
- Ống máu không chống đông: 5 ml.

### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm trước khi tiến hành xét nghiệm.

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xét nghiệm** của lâm sàng, kiểm tra và đối chiếu các thông tin của người bệnh trên ống máu và phiếu xét nghiệm.

**3. Tiến hành kỹ thuật [2]**

- **Bước 1:** Chuẩn bị một ống nghiệm sạch, khô và ghi nhãn họ và tên hoặc mã số của người bệnh;

- **Bước 2:** Chuẩn bị dung dịch hồng cầu nhóm O, 3% (Nhỏ 1 giọt hồng cầu khối nhóm O và 29 giọt nước muối sinh lý 0,9% vào một ống nghiệm, trộn đều);

- **Bước 3:** Nhỏ 3 giọt huyết thanh của người bệnh vào ống nghiệm đã được ghi nhãn ở bước 1;

- **Bước 4:** Thêm 1 giọt hồng cầu nhóm O, 3% vào ống nghiệm trên và trộn đều;

- **Bước 5:** Thêm 3 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trên, trộn đều;

- **Bước 6:** Ủ ống nghiệm trên ở 37°C, trong vòng 15 phút;

- **Bước 7:** Sau khi ủ quan sát hiện tượng tan máu và ngưng kết. Nếu có hiện tượng tan máu và ngưng kết, ghi kết quả là dương tính.

- **Bước 8:** Nếu không có hiện tượng tan máu và ngưng kết, rửa hồng cầu 4 lần bằng nước muối sinh lý 0,9%;

- **Bước 9:** Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin vào ống nghiệm trên, trộn đều.

- **Bước 10:** Ly tâm 1000 vòng trong 20 giây;

- **Bước 11:** Với những ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng, trộn đều, ly tâm 1000 vòng trong 20 giây. Đọc và ghi lại kết quả vào phiếu xét nghiệm. Phản ứng phải cho kết quả ngưng kết từ 2+ đến 3+. Nếu những ống nghiệm sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà không ngưng kết thì phải lặp lại xét nghiệm từ đầu.

**VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Kết quả nghiệm pháp Coombs gián tiếp âm tính: Không có kháng thể miễn dịch trong huyết thanh của người bệnh và người hiến máu, trên hồng cầu không có kháng nguyên tương ứng với kháng thể nhóm máu được xác định.

- Kết quả nghiệm pháp Coombs gián tiếp dương tính: Có kháng thể miễn dịch trong huyết thanh của người bệnh và người hiến máu, trên hồng cầu có kháng nguyên tương ứng với kháng thể nhóm máu được xác định.



### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm nghiệm pháp Coombs trực tiếp.

#### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fifth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Máu và các sản phẩm máu an toàn, quyển 3 Huyết thanh học nhóm máu, Tài liệu dịch, năm 2011.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

**ĐỊNH NHÓM MÁU HỆ Rh (D) yếu**  
**(Phương pháp ống nghiệm)**  
**Determination of D<sup>u</sup> antigen of Rh system**

**I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết và sử dụng thuốc thử kháng globulin người (huyết thanh Coombs) để xác định sự có mặt của các kháng thể D loại IgG đã được cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu [1].

**II. CHỈ ĐỊNH**

*Xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh được chỉ định trong những trường hợp sau:*

- Xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh cho người bệnh;
- Xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh cho người hiến máu;

**III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

**IV. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

**2. Phương tiện – Hóa chất**

**2.1. Trang thiết bị**

Máy ly tâm thường có số vòng chính xác; Kính hiển vi; Bình cách thủy; Tủ lạnh.

**2.2. Dụng cụ**

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Cốc thủy tinh có mỏ loại 500 ml; Bút marker; Pipet nhựa.

**2.3. Thuốc thử và hoá chất**

Thuốc thử Anti D loại IgG, Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất.

**2.4. Mẫu máu để xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh**

Một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

**2.5. Vật tư tiêu hao**

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm định nhóm máu; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

**3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- 1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm** trước khi tiến hành xét nghiệm.
- 2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên D yếu của hệ nhóm máu máu Rh**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm xem đã phù hợp chưa?
- 3. Chuẩn bị hồng cầu cần xác định kháng nguyên D yếu của hệ Rh 3%** (1giọt hồng cầu khô và 29 giọt nước muối sinh lý 0,9%).
- 4. Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô ghi nhãn** bao gồm các thông tin của người cần xác định kháng nguyên D yếu lên ống nghiệm.
- 5. Tiến hành xác định kháng nguyên D yếu của hệ nhóm máu Rh [2]:**
  - **Bước 1:** Nhỏ 1 giọt dung dịch hồng cầu 3% của người cần xác định kháng nguyên D yếu vào ống nghiệm đã ghi nhãn ở trên;
  - **Bước 2:** Thêm 2 giọt thuốc thử anti D loại IgG vào ống nghiệm trên, trộn đều;
  - **Bước 3:** Ủ ống nghiệm trên 30 phút ở 37°C (Nếu thêm 2 giọt dung dịch LISS vào ống nghiệm trên trước khi ủ thì chỉ cần ủ 15 phút).
  - **Bước 4:** Quan sát hiện tượng tan máu và ngưng kết, ghi lại mức độ ngưng kết.
  - **Bước 5:** Nếu không ngưng kết, rửa 4 lần bằng nước muối sinh lý 0,9%;
  - **Bước 6:** Thêm 2 giọt thuốc thử kháng globulin vào ống nghiệm trên và trộn đều. Ly tâm 1000 vòng trong 20 giây.
  - **Bước 7:** Quan sát hiện tượng tan máu và ngưng kết, ghi lại kết quả.
  - **Bước 8:** Nếu phản ứng ngưng kết, thực hiện thêm nghiệm pháp Coombs trực tiếp; nếu nghiệm pháp Coombs trực tiếp âm tính thì kết luận là hồng cầu mang kháng nguyên D yếu.
  - **Bước 9:** Nếu phản ứng không ngưng kết thì thêm 1 giọt hồng cầu chứng, trộn đều, ly tâm 1000 vòng trong 20 giây. Kết quả phải ngưng kết với mức độ từ 1+ đến 2+ thì xét nghiệm mới có giá trị.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Nếu phản ứng ngưng kết ở giai đoạn 37°C và/ hoặc kháng globulin: Kết luận hồng cầu mang kháng nguyên D yếu.
- Nếu phản ứng không ngưng kết cả ở giai đoạn 37°C và/ hoặc kháng globulin người: Kết luận người bệnh hoặc người hiến máu có nhóm máu Rh D âm.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

- Thực hiện kiểm chứng theo quy định của thông tư 26/ 2013/TT- BYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu [3].

- Hướng dẫn sử dụng anti D<sup>VI</sup> loại IgG để xác định D yếu.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fifth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Máu và các sản phẩm máu an toàn, quyển 3 Huyết thanh học nhóm máu, Tài liệu dịch, năm 2011.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN C CỦA HỆ NHÓM MÁU Rh**

**(Kỹ thuật ống nghiệm)**

## **Determination C antigen of Rh system**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ nhóm máu Rh được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti C loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên C [1], [2].

### **II. CHỈ ĐỊNH**

*Xác định kháng nguyên C của hệ Rh được chỉ định trong những trường hợp sau:*

- Xét nghiệm cho người bệnh;
- Xét nghiệm cho người hiến máu; Xét nghiệm để xây dựng panel hồng cầu, lực lượng hiến máu dự bị và xây dựng ngân hàng người hiến máu có nhóm máu hiếm.
- Xét nghiệm cho các nghiên cứu về hăng số và nhân chủng học.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

#### **2. Phương tiện – Hóa chất**

##### **2.1. Trang thiết bị**

Kính hiển vi; Bình cách thủy; Tủ lạnh. Máy ly tâm thường có số vòng chính xác;

##### **2.2. Dụng cụ**

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Cốc thủy tinh có mỏ loại 500 ml; Bút marker; Pipet nhựa.

##### **2.3. Thuốc thử và hoá chất**

Thuốc thử anti C loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

##### **2.4. Mẫu máu để xác định kháng nguyên C của hệ Rh**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

##### **2.5. Vật tư tiêu hao**

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm định nhóm máu; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

**3. Thời gian làm xét nghiệm:** 60 phút

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị đầy dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên C.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên C:** Kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu với phiếu yêu cầu xét nghiệm; Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên C của hệ nhóm máu Rh [2]**

- **Bước 1:** Chuẩn bị hồng cầu cần xác định kháng nguyên C 5% (1thể tích hồng cầu khối và 19 thể tích NaCl 0,9%);

- **Bước 2:** Nhỏ 1 giọt thuốc thử anti C loại IgM vào ống nghiệm đã chuẩn bị ở trên;

- **Bước 3:** Thêm 1 giọt hồng cầu 5% của người cần xác định kháng nguyên C vào ống nghiệm trên;

- **Bước 4:** Trộn đều, ly tâm 1000 vòng trong 20 giây.

- **Bước 5:** Đọc kết quả và ghi lại mức độ ngưng kết.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên C trên hồng cầu.

- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên C trên hồng cầu.

**Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

- Thực hiện kiểm chứng theo quy định của thông tư 26/ 2013/TT- BYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu [3].

- Hướng dẫn sử dụng anti C loại IgM.

- Thực hiện kỹ thuật xác định kháng nguyên C sớm sau khi lấy mẫu máu.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti C loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN c CỦA HỆ NHÓM MÁU Rh**

**(Kỹ thuật ống nghiệm)**

**Determination c antigen of Rh system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên c của hệ nhóm máu Rh được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti c loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên c [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

*Xác định kháng nguyên c của hệ Rh:* Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao để xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### **2.2. Thuốc thử và hoá chất:**

Thuốc thử anti c loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

#### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên c của hệ Rh**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị đầy dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên c.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên c**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên c với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên c của hệ nhóm máu Rh[2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti c loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên c trên hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên c trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti c loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN E CỦA HỆ NHÓM MÁU Rh**

**(Kỹ thuật ống nghiệm)**

**Determination E antigen of Rh system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên E của hệ nhóm máu Rh được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti E loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên E [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên E của hệ Rh:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### **2.2. Thuốc thử và hoá chất**

Thuốc thử anti E loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

#### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên E của hệ Rh**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên E.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên E**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên E với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên E của hệ nhóm máu Rh**

Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti E loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên E trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên E trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng Anti E loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN e CỦA HỆ NHÓM MÁU Rh**

**(Kỹ thuật ống nghiệm)**

**Determination e antigen of Rh system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên e của hệ nhóm máu Rh được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti e loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên e [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên e của hệ Rh:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện- Hóa chất**

#### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### **2.2. Thuốc thử và hoá chất**

Thuốc thử anti e loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

#### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên e của hệ Rh**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên e.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên e**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên e với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên e của hệ nhóm máu Rh [2]**

Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti e loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên e trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên e trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti e loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN K CỦA HỆ NHÓM MÁU KELL

(Kỹ thuật ống nghiệm)

## Determination K antigen of Kell system

### I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên K của hệ nhóm máu Kell được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti K loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên K [1], [2].

### II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên K của hệ Kell:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

#### 2. Phương tiện – Hóa chất

##### 2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

##### 2.2. Thuốc thử và hoá chất

Thuốc thử anti K loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

##### 2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên K của hệ Kell

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

#### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

### V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên K.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên K**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên K với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên K của hệ nhóm máu Kell [2]**

Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti K loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên K trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên K trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti K loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN k CỦA HỆ NHÓM MÁU KELL**

**(Kỹ thuật ống nghiệm)**

**Determination k antigen of Kell system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên k của hệ nhóm máu Kell được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti k loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên k [1].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên k của hệ Kell:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### **2.2. Thuốc thử và hoá chất**

Thuốc thử anti k loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

#### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên k của hệ Kell**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên k.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên k**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên k với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên k của hệ nhóm máu Kell [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti k loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên k trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên k trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti k loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Jk<sup>a</sup> CỦA HỆ NHÓM MÁU KIDD

(Kỹ thuật ống nghiệm)

Determination Jk<sup>a</sup> antigen of Kidd system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên Jk<sup>a</sup> của hệ nhóm máu Kidd được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti Jk<sup>a</sup> loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên Jk<sup>a</sup> [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên Jk<sup>a</sup> của hệ Kidd:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

#### 2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### 2.2. Thuốc thử và hoá chất

Thuốc thử anti Jk<sup>a</sup> loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

#### 2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên Jk<sup>a</sup> của hệ Kidd

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên Jk<sup>a</sup>.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên Jk<sup>a</sup>,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên Jk<sup>a</sup> với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên Jk<sup>a</sup> của hệ nhóm máu Kidd [2]**

Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Jk<sup>a</sup> loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Jk<sup>a</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Jk<sup>a</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Jk<sup>a</sup> loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN $Jk^b$ CỦA HỆ NHÓM MÁU KIDD

(Kỹ thuật ống nghiệm)

Determination  $Jk^b$  antigen of Kidd system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên  $Jk^b$  của hệ nhóm máu Kidd được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti  $Jk^b$  loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên  $Jk^b$  [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên  $Jk^b$  của hệ Kidd:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

#### 2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### 2.2. Thuốc thử và hoá chất

Thuốc thử anti  $Jk^b$  loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

#### 2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên $Jk^b$ của hệ Kidd

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên  $Jk^b$ .

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên  $Jk^b$ ,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên  $Jk^b$  với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên  $Jk^b$  của hệ nhóm máu Kidd [2]**

Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Jk<sup>b</sup> loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Jk<sup>b</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Jk<sup>b</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti JK<sup>b</sup> loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN S CỦA HỆ NHÓM MÁU MNS**

**(Kỹ thuật ống nghiệm)**

**Determination S antigen of MNS system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên S của hệ nhóm máu MNS được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti S loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên S [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên S của hệ MNS:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### **2.2. Thuốc thử và hoá chất**

Thuốc thử anti S loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

#### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên S của hệ MNS**

Gồm một ống máu tĩnh đã mạch được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên S.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên S**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên S với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên S của hệ nhóm máu MNS [2]**

Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti S loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên S trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên S trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti S loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN P1 CỦA HỆ P1PK

(kỹ thuật ống nghiệm)

## Determination P1 antigen of P1PK system

### I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên P1 của hệ nhóm máu P1PK được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti P1 loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên P1 [1], [2].

### II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên P1 của hệ P1PK:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

#### 2. Phương tiện – Hóa chất

##### 2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

##### 2.2. Thuốc thử và hoá chất:

Thuốc thử anti P1 loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

##### 2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên P1 của hệ P1PK:

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

#### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

### V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên P1.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên P1**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên P1 với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên P1 của hệ nhóm máu P1PK [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti P1 loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên P1 trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên P1 trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti P1 loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Le<sup>a</sup> CỦA HỆ NHÓM MÁU LEWIS

(Phương pháp ống nghiệm)

Determination Le<sup>a</sup> antigen of Lewis system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên Le<sup>a</sup> của hệ nhóm máu Lewis được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti Le<sup>a</sup> loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên Le<sup>a</sup> [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên Le<sup>a</sup> của hệ Lewis:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

#### 2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### 2.2. Thuốc thử và hoá chất:

Thuốc thử anti Le<sup>a</sup> loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

#### 2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên Le<sup>a</sup> của hệ Lewis:

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên Le<sup>a</sup>.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên Le<sup>a</sup>,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên Le<sup>a</sup> với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên Le<sup>a</sup> của hệ nhóm máu Lewis [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Le<sup>a</sup> loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Le<sup>a</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Le<sup>a</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Le<sup>a</sup> loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Le<sup>b</sup> CỦA HỆ NHÓM MÁU LEWIS

(Kỹ thuật ống nghiệm)

Determination Le<sup>b</sup> antigen of Lewis system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên Le<sup>b</sup> của hệ nhóm máu Lewis được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Anti Le<sup>b</sup> loại IgM sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên Le<sup>b</sup> [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

*Xác định kháng nguyên Le<sup>b</sup> của hệ Lewis* Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

#### 2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### 2.2. Thuốc thử và hoá chất:

Thuốc thử anti Le<sup>b</sup> loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

#### 2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên Le<sup>b</sup> của hệ Lewis:

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên Le<sup>b</sup>.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên Le<sup>b</sup>,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên Le<sup>b</sup> với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên Le<sup>b</sup> của hệ nhóm máu Lewis [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Le<sup>b</sup> loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Le<sup>b</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Le<sup>b</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Le<sup>b</sup> loại IgM.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Kp<sup>a</sup> CỦA HỆ NHÓM MÁU KELL**

## **(Kỹ thuật ống nghiệm)**

### **Determination Kp<sup>a</sup> antigen of Kell system**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup> của hệ nhóm máu Kell được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, sử dụng thuốc thử kháng  $\gamma$  globulin người để xác định sự có mặt của các kháng thể Kp<sup>a</sup> loại IgG đã được cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên Kp<sup>a</sup> [1], [2].

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup> của hệ Kell:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

##### **2. Phương tiện – Hóa chất**

###### *2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

###### *2.2. Thuốc thử và hoá chất:*

Thuốc thử anti Kp<sup>a</sup> loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

###### *2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup> của hệ Kell:*

Gồm một ống máu tĩnh đã mạch được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

##### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

#### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup>.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup>,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup> với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

### 3. Tiến hành xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup> của hệ nhóm máu Kell:

- **Bước 1:** Chuẩn bị hồng cầu cần xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup> 5% (1 thể tích hồng cầu khối và 19 thể tích nước muối sinh lý 0,9%);
- **Bước 2:** Nhỏ 1 giọt thuốc thử anti Kp<sup>a</sup> vào ống nghiệm đã chuẩn bị ở trên;
- **Bước 3:** Thêm 1 giọt hồng cầu 5% của người cần xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> vào ống nghiệm trên;
- **Bước 4:** Ủ từ 15 - 20 phút ở nhiệt độ 37°C.
- **Bước 5:** Trộn đều, ly tâm 1000 vòng trong 20 giây.
- **Bước 6:** Đọc kết quả và ghi lại mức độ ngưng kết.
- **Bước 7:** Rửa 3 lần bằng nước muối sinh lý 0,9%, loại bỏ hết dịch nổi.
- **Bước 8:** Nhỏ vào ống nghiệm trên 2 giọt kháng globulin.
- **Bước 9:** Trộn đều, ly tâm 1000 vòng trong 20 giây.
- **Bước 10:** Đọc kết quả và ghi lại mức độ phản ứng, nếu phản ứng không ngưng kết, nhỏ thêm một giọt hồng cầu chứng và lặp lại bước 5 và 6. Nếu kết quả vẫn không ngưng kết là không có giá trị và phải lặp lại xét nghiệm.

### VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Kp<sup>a</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Kp<sup>a</sup> trên hồng cầu.

#### Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### Tài liệu tham khảo

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Kp<sup>a</sup> loại IgG.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Kp<sup>b</sup> CỦA HỆ NHÓM MÁU KELL

(Kỹ thuật ống nghiệm)

## Determination Kp<sup>b</sup> antigen of Kell system

### I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ nhóm máu Kell được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, sử dụng thuốc thử kháng  $\gamma$  globulin người để xác định sự có mặt của các kháng thể Kp<sup>b</sup> loại IgG đã được cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên Kp<sup>b</sup> [1], [2].

### II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện:

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

#### 2. Phương tiện – Hóa chất:

*2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

*2.2. Thuốc thử và hoá chất:*

Thuốc thử anti Kp<sup>b</sup> loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

*2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

#### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

### V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup>.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup>,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ nhóm máu Kell [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Kp<sup>b</sup> loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup> của hệ Kell.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Kp<sup>b</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Kp<sup>b</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Kp<sup>b</sup> loại IgG.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN M CỦA HỆ NHÓM MÁU MNS

(Kỹ thuật ống nghiệm)

## Determination M antigen of MNS system

### I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên M của hệ nhóm máu MNS được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, sử dụng thuốc thử kháng  $\gamma$  globulin người để xác định sự có mặt của các kháng thể M loại IgG đã được cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên M [1], [2].

### II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên M của hệ MNS:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện:

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

#### 2. Phương tiện – Hóa chất

*2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

*2.2. Thuốc thử và hoá chất:*

Thuốc thử anti M loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

*2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên M của hệ MNS:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

#### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

### V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên M.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên M**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên M với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên M của hệ nhóm máu MNS [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti M loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên M trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên M trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti M loại IgG.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

**XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN N CỦA HỆ NHÓM MÁU MNS**  
**(Kỹ thuật ống nghiệm)**  
**Determination N antigen of MNS system**

**I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên N của hệ nhóm máu MNS được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, sử dụng thuốc thử kháng  $\gamma$  globulin người để xác định sự có mặt của các kháng thể N loại IgG đã được cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên N [1], [2].

**II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên N của hệ MNS:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

**III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

**IV. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

**2. Phương tiện – Hóa chất**

**2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

**2.2. Thuốc thử và hoá chất:**

Thuốc thử anti N loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

**2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên N của hệ MNS:**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

**3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

**V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên N.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên N**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên N với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên N của hệ nhóm máu MNS** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti N loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên N trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên N trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti N loại IgG.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN $Fy^a$ CỦA HỆ NHÓM MÁU DUFFY**

## **(Kỹ thuật ống nghiệm)**

### **Determination $Fy^a$ antigen of Duffy system**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên  $Fy^a$  của hệ nhóm máu Duffy được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, sử dụng thuốc thử kháng  $\gamma$  globulin người để xác định sự có mặt của các kháng thể  $Fy^a$  loại IgG đã được cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên  $Fy^a$  [1], [2].

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên  $Fy^a$  của hệ Duffy:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

##### **2. Phương tiện – Hóa chất**

*2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

*2.2. Thuốc thử và hoá chất:*

Thuốc thử anti  $Fy^a$  loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

*2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên  $Fy^a$  của hệ Duffy:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

**3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

#### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên  $Fy^a$ .

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên  $Fy^a$ ,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên  $Fy^a$  với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên Fy<sup>a</sup> của hệ nhóm máu Duffy [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Fy<sup>a</sup> loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Fy<sup>a</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Fy<sup>a</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Fy<sup>a</sup> loại IgG.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN $Fy^b$ CỦA HỆ NHÓM MÁU DUFFY

(Kỹ thuật ống nghiệm)

Determination  $Fy^b$  antigen of Duffy system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên  $Fy^b$  của hệ nhóm máu Duffy được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, sử dụng thuốc thử kháng  $\gamma$  globulin người để xác định sự có mặt của các kháng thể  $Fy^b$  loại IgG đã được cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên  $Fy^b$  [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên  $Fy^b$  của hệ Duffy:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

*2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

*2.2. Thuốc thử và hoá chất:*

Thuốc thử anti  $Fy^b$  loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

*2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên  $Fy^b$  của hệ Duffy:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

**3. Thời gian làm xét nghiệm:** 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên  $Fy^b$ .

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên  $Fy^b$ ,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên  $Fy^b$  với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên Fy<sup>b</sup> của hệ nhóm máu Duffy [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Fy<sup>b</sup> loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Fy<sup>b</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Fy<sup>b</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Fy<sup>b</sup> loại IgG.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN S CỦA HỆ NHÓM MÁU MNS

(Kỹ thuật ống nghiệm)

## Determination s antigen of MNS system

### I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên s của hệ nhóm máu MNS được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, sử dụng thuốc thử kháng  $\gamma$  globulin người để xác định sự có mặt của các kháng thể s loại IgG đã được cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên s [1], [2].

### II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên s của hệ MNS:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

#### 2. Phương tiện – Hóa chất

*2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

*2.2. Thuốc thử và hoá chất:*

Thuốc thử anti s loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

*2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên s của hệ MNS:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

#### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

### V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên s.

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên s,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên s với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên s của hệ nhóm máu MNS [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti s loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên s trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên s trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti s loại IgG.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN $\text{Lu}^a$ CỦA HỆ NHÓM MÁU LUTHERAN**

## **(Kỹ thuật ống nghiệm)**

### **Determination $\text{Lu}^a$ antigen of Lutheran system**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên  $\text{Lu}^a$  của hệ nhóm máu Lutheran được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, sử dụng thuốc thử kháng  $\gamma$  globulin người để xác định sự có mặt của các kháng thể  $\text{Lu}^a$  loại IgG đã được cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên  $\text{Lu}^a$  [1], [2].

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên  $\text{Lu}^a$  của hệ Lutheran:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

##### **2. Phương tiện – Hóa chất**

###### *2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

###### *2.2. Thuốc thử và hoá chất:*

Thuốc thử anti  $\text{Lu}^a$  loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

###### *2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên $\text{Lu}^a$ của hệ Lutheran:*

Gồm một ống máu tĩnh đã mạch được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

##### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

#### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên  $\text{Lu}^a$ .

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên  $\text{Lu}^a$ ,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên  $\text{Lu}^a$  với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên Lu<sup>a</sup> của hệ nhóm máu Lutheran [2]:**  
Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Lu<sup>a</sup> loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Lu<sup>a</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Lu<sup>a</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Lu<sup>a</sup> loại IgG.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN $Lu^b$ CỦA HỆ NHÓM MÁU LUTHERAN**

## **(Kỹ thuật ống nghiệm)**

### **Determination $Lu^b$ antigen of Lutheran system**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên  $Lu^b$  của hệ nhóm máu Lutheran được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, sử dụng thuốc thử kháng  $\gamma$  globulin người để xác định sự có mặt của các kháng thể  $Lu^b$  loại IgG đã được cảm nhiễm trên bề mặt hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên  $Lu^b$  [1], [2].

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên  $Lu^b$  của hệ Lutheran:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

##### **2. Phương tiện – Hóa chất**

###### *2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của quy trình xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

###### *2.2. Thuốc thử và hoá chất:*

Thuốc thử anti  $Lu^b$  loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất...

###### *2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên $Lu^b$ của hệ Lutheran:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

##### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

#### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm, trang thiết bị** trước khi làm xét nghiệm. Trên ống nghiệm được đánh số hoặc ghi nhãn đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên  $Lu^b$ .

**2. Nhận mẫu máu và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên  $Lu^b$ ,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên mẫu máu cần xác định kháng nguyên  $Lu^b$  với phiếu yêu cầu xét nghiệm. Kiểm tra về số lượng và chất lượng mẫu máu.

**3. Tiến hành xác định kháng nguyên  $Lu^b$  của hệ nhóm máu Lutheran [2]:**

Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Lu<sup>b</sup> loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Lu<sup>b</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Lu<sup>b</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Lu<sup>b</sup> loại IgG.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN C CỦA HỆ NHÓM MÁU Rh**

**(Phương pháp gelcard)**

**Determination C antigen of Rh system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti C loại IgM được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên C, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgM sẽ kết hợp với anti C và cho phản ứng ngưng kết trong dung môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên C của hệ Rh:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### *1.1. Trang thiết bị:*

Máy ủ gelcard chuyên dụng; Máy ly tâm gelcard chuyên dụng; Máy ly tâm ống thẳng có số vòng và thời gian chính xác để ly tâm ống máu; Tủ lạnh đựng sinh phẩm...

#### *1.2. Dụng cụ:*

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Bút marker; Pipet nhựa; Pipet tự động; Đầu côn các loại; Hộp đựng đầu côn; Giá đỡ gelcard.

#### *1.3. Thuốc thử và hoá chất:*

Kháng huyết thanh chuẩn Anti C loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

#### *1.4. Mẫu máu để xác định kháng nguyên C của hệ Rh:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

#### *1.5. Vật tư tiêu hao:*

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm định nhóm máu; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000 µl dung dịch LISS và 5 µl hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên C** của người cần xác định kháng nguyên C, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên C của hệ Rh [2]:**

- **Bước 1:** Ghi đầy đủ thông tin của người bệnh/ người hiến máu lên tấm gelcard.
- **Bước 2:** Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel theo đúng quy định.
- **Bước 3:** Nhỏ 40 µl dung dịch hồng cầu bệnh nhân/ người hiến máu 0,5% đã chuẩn bị ở trên vào giếng gelcard đã được ghi nhãn.
- **Bước 4:** Thêm 20 µl anti C loại IgM vào giếng gelcard trên.
- **Bước 5:** Ly tâm gelcard bằng máy ly tâm chuyên dụng trong 10 phút.
- **Bước 6:** Đọc kết quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất sinh phẩm.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên C trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên C trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn xác định kháng nguyên C loại IgM bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



**XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN c CỦA HỆ NHÓM MÁU Rh**  
**(Phương pháp gelcard)**  
**Determination c antigen of Rh system**

**I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti c loại IgM được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên c, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgM sẽ kết hợp với anti C và cho phản ứng ngưng kết trong dung môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

**II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên c của hệ Rh:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

**III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

**IV. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

**2. Phương tiện – Hóa chất**

**2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

**2.2. Thuốc thử và hoá chất:**

Kháng huyết thanh chuẩn Anti c loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

**2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên c của hệ Rh:**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

**3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

**V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khô của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên C** của người cần xác định kháng nguyên C, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên c của hệ Rh [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti c loại IgM, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên c trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên c trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti c loại IgM bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN E CỦA HỆ NHÓM MÁU Rh**

**(Phương pháp gelcard)**

**Determination E antigen of Rh system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên E của hệ Rh bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti E loại IgM được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên E, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgM sẽ kết hợp với anti E và cho phản ứng ngưng kết trong dung môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên E của hệ Rh:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

#### **2.2. Thuốc thử và hoá chất:**

Kháng huyết thanh chuẩn Anti E loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

#### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên E của hệ Rh:**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên E** của người cần xác định kháng nguyên E, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên E của hệ Rh [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti E loại IgM, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên E trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên E trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti E loại IgM bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

**XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN e CỦA HỆ NHÓM MÁU Rh**  
**(Phương pháp gelcard)**  
**Determination e antigen of Rh system**

**I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên e của hệ Rh bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti e loại IgM được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên e, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgM sẽ kết hợp với anti e và cho phản ứng ngưng kết trong dung môi trường có ái lực cao ở 37°C [2].

**II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên C của hệ Rh:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

**III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

**IV. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

**2. Phương tiện – Hóa chất**

**2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

**2.2. Thuốc thử và hoá chất:**

Kháng huyết thanh chuẩn Anti e loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

**2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên e của hệ Rh:**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

**3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

**V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên e** của người cần xác định kháng nguyên e, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên e của hệ Rh [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti e loại IgM, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên e trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên e trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti e loại IgM bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN K CỦA HỆ NHÓM MÁU KELL

(Phương pháp gelcard)

## Determination K antigen of Kell system

### I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên K của hệ Kell bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti K loại IgM được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên K, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgM sẽ kết hợp với anti K và cho phản ứng ngưng kết trong dung môi trường có ái lực cao ở 37°C [2].

### II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên K của hệ Kell:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

### III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

### IV. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

#### 2. Phương tiện – Hóa chất

##### 2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

##### 2.2. Thuốc thử và hoá chất:

Anti K loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

##### 2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên K của hệ Kell

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

#### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

### V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên K** của người cần xác định kháng nguyên K, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên K của hệ Kell [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti K loại IgM, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên K trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên K trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti K loại IgM bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN k CỦA HỆ NHÓM MÁU KELL**

**(Phương pháp gelcard)**

**Determination k antigen of Kell system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên k của hệ Kell bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti k loại IgM được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên k, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgM sẽ kết hợp với anti k và cho phản ứng ngưng kết trong dung môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên k của hệ Kell:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

#### **2.2. Thuốc thử và hoá chất:**

Anti k loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

#### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên k của hệ Kell:**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên k** của người cần xác định kháng nguyên k, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên k của hệ Kell [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti k loại IgM, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên k trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên k trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti k loại IgM bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Kp<sup>a</sup> CỦA HỆ NHÓM MÁU KELL

(Phương pháp gelcard)

Determination Kp<sup>a</sup> antigen of Kell system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup> của hệ Kell bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti Kp<sup>a</sup> loại IgG được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên Kp<sup>a</sup>, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti Kp<sup>a</sup> và cho phản ứng ngưng kết trong môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup> của hệ Kell:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

#### 2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

#### 2.2. Thuốc thử và hoá chất:

Anti Kp<sup>a</sup> loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

#### 2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup> của hệ Kell:

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên Kp<sup>a</sup>,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên Kp<sup>a</sup> của hệ Kell [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Kp<sup>a</sup> loại IgG, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Kp<sup>a</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Kp<sup>a</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Kp<sup>a</sup> loại IgM bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Kp<sup>b</sup> CỦA HỆ NHÓM MÁU KELL

(Phương pháp gelcard)

Determination Kp<sup>b</sup> antigen of Kell system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti Kp<sup>b</sup> loại IgG được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên Kp<sup>b</sup>, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti Kp<sup>b</sup> và cho phản ứng ngưng kết trong dung môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

2.1. *Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

2.2. *Thuốc thử và hoá chất:*

Anti Kp<sup>b</sup> loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

2.3. *Mẫu máu để xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

**3. Thời gian làm xét nghiệm:** 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. *Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ* trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

2. *Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup>* của người cần xác định kháng nguyên Kp<sup>b</sup>, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên Kp<sup>b</sup> của hệ Kell [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Kp<sup>b</sup> loại IgG, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Kp<sup>b</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Kp<sup>b</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Kp<sup>b</sup> loại IgG bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Fy<sup>a</sup> CỦA NHÓM MÁU HỆ DUFFY

(Phương pháp gelcard)

Determination Fy<sup>a</sup> antigen of Duffy system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên Fy<sup>a</sup> của hệ Duffy bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti Fy<sup>a</sup> loại IgG được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên Fy<sup>a</sup>, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti Fy<sup>a</sup> và cho phản ứng ngưng kết trong dung môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên Fy<sup>a</sup> của hệ Duffy:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

#### 2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

#### 2.2. Thuốc thử và hoá chất:

Anti Fy<sup>a</sup> loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

#### 2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên Fy<sup>a</sup> của hệ Duffy:

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên Fy<sup>a</sup>,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên  $Fy^a$  của hệ Duffy [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti  $Fy^a$  loại IgG, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên  $Fy^a$  trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên  $Fy^a$  trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti  $Fy^a$  loại IgG bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN $Fy^b$ CỦA HỆ NHÓM MÁU DUFFY**

**(Phương pháp gelcard)**

**Determination  $Fy^b$  antigen of Duffy system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên  $Fy^b$  của hệ Duffy bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti  $Fy^b$  loại IgG được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên  $Fy^b$ , các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti  $Fy^b$  và cho phản ứng ngưng kết trong dung môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên  $Fy^b$  của hệ Duffy:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

#### **2.2. Thuốc thử và hoá chất:**

Anti  $Fy^b$  loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

#### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên $Fy^b$ của hệ Duffy:**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khô của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên  $Fy^b$ ,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên  $Fy^b$  của hệ Duffy [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti  $Fy^b$  loại IgG, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên  $Fy^b$  trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên  $Fy^b$  trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti  $Fy^b$  loại IgG bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Jk<sup>a</sup> CỦA HỆ NHÓM MÁU KIDD

(Phương pháp gelcard)

Determination Jk<sup>a</sup> antigen of Kidd system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên Jk<sup>a</sup> của hệ Kidd bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti Jk<sup>a</sup> loại IgG được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên Jk<sup>a</sup>, các kháng γ globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti Jk<sup>a</sup> và cho phản ứng ngưng kết trong dung môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

*Xác định kháng nguyên Jk<sup>a</sup> của hệ Kidd:* Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

#### 2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

#### 2.2. Thuốc thử và hoá chất:

Anti Jk<sup>a</sup> loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

#### 2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên Jk<sup>a</sup> của hệ Kidd:

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

*1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ* trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000 µl dung dịch LISS và 5 µl hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

*2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên Jk<sup>a</sup>,* kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên Jk<sup>a</sup> của hệ Kidd [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Jk<sup>a</sup> loại IgG, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Jk<sup>a</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Jk<sup>a</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Jk<sup>a</sup> loại IgG bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Jk<sup>b</sup> CỦA HỆ NHÓM MÁU KIDD

(Phương pháp gelcard)

Determination Jk<sup>b</sup> antigen of Kidd system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên Jk<sup>b</sup> của hệ Kidd bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti Jk<sup>b</sup> loại IgG được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên Jk<sup>b</sup>, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti Jk<sup>b</sup> và cho phản ứng ngưng kết trong môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên Jk<sup>b</sup> của hệ Duffy:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

2.1. *Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

2.2. *Thuốc thử và hoá chất:*

Anti Jk<sup>b</sup> loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

2.3. *Mẫu máu để xác định kháng nguyên Jk<sup>b</sup> của hệ Kidd:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

**3. Thời gian làm xét nghiệm:** 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. *Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ* trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

2. *Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên Jk<sup>b</sup>*, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên  $Jk^b$  của hệ Kidd [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti  $Jk^b$  loại IgG, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên  $Jk^b$  trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên  $Jk^b$  trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti  $Jk^b$  loại IgG bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN Le<sup>a</sup> CỦA HỆ NHÓM MÁU LEWIS

(Phương pháp gelcard)

Determination Le<sup>a</sup> antigen of Lewis system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên Le<sup>a</sup> của hệ Lewis bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti Le<sup>a</sup> loại IgM có sẵn trong tấm gelcard sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên Le<sup>a</sup> sau khi tấm gelcard được ly tâm [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

*Xác định kháng nguyên Le<sup>a</sup> của hệ Lewis:* Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

*2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

*2.2. Thuốc thử và hoá chất:*

Tấm gelcard đã có sẵn anti Le<sup>a</sup> loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất.

*2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên Le<sup>a</sup> của hệ Lewis:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

**3. Thời gian làm xét nghiệm:** 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

*1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ* trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 5% (500 µl dung dịch hòa loãng I và 25 µl hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu, trộn đều, ủ dịch treo hồng cầu 10 phút ở nhiệt độ từ 18 - 25°C). Sử dụng hồng cầu đã ủ trên trong vòng 15 phút.

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên  $Le^a$**  cần xác định kháng nguyên  $Le^a$ , kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên  $Le^a$  của hệ Lewis[2]:**

- **Bước 1:** Ghi đầy đủ thông tin của người bệnh/ người hiến máu lên tấm gelcard.
- **Bước 2:** Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel theo đúng quy định.
- **Bước 3:** Thêm 10 hoặc 12,5  $\mu$ l dung dịch hồng cầu bệnh nhân/ người hiến máu 5% đã chuẩn bị ở trên vào giếng gelcard đã có sẵn anti  $Le^a$ .
- **Bước 4:** Ly tâm gelcard bằng máy ly tâm chuyên dụng trong 10 phút.
- **Bước 5:** Đọc kết quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất sinh phẩm.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên  $Le^a$  trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên  $Le^a$  trên hồng cầu.

**Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti  $Le^a$  loại IgM bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN $Le^b$ CỦA HỆ NHÓM MÁU LEWIS

(Phương pháp gelcard)

Determination  $Le^b$  antigen of Lewis system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên  $Le^b$  của hệ Lewis bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti  $Le^b$  loại IgM có sẵn trong tấm gelcard sẽ gây ngưng kết trực tiếp hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên  $Le^b$  sau khi tấm gelcard được ly tâm [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên  $Le^b$  của hệ Lewis:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

2.1. *Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

2.2. *Thuốc thử và hoá chất:*

Tấm gelcard có sẵn anti  $Le^b$  loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất.

2.3. *Mẫu máu để xác định kháng nguyên  $Le^b$  của hệ Lewis:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

**3. Thời gian làm xét nghiệm:** 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. *Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ* trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

2. *Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên  $Le^b$* , kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên  $Le^b$  của hệ Lewis [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti  $Le^b$  loại IgM, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên  $Le^b$  của hệ Lewis bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên  $Le^b$  trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên  $Le^b$  trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti  $Le^b$  loại IgM bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN s CỦA HỆ NHÓM MÁU MNS**

**(Phương pháp gelcard)**

**Determination s antigen of MNS system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên s của hệ MNS bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti s loại IgG được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên s, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti s và cho phản ứng ngưng kết trong môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên s của hệ MNS:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

#### **2.2. Thuốc thử và hoá chất:**

Anti s loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

#### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên s của hệ MNS:**

Gồm một ống máu tĩnh đã mạch được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khô của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên s**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên s của hệ MNS [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Fy<sup>a</sup> loại IgG, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên s trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên s trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti s loại IgG bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN S CỦA HỆ NHÓM MÁU MNS

(Phương pháp gelcard)

Determination S antigen of MNS system

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật xác định kháng nguyên S của hệ MNS bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti S loại IgM được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên S, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti S và cho phản ứng ngưng kết trong môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## II. CHỈ ĐỊNH

**Xác định kháng nguyên S của hệ MNS:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

**2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

**2.2. Thuốc thử và hoá chất:**

Anti S loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

**2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên S của hệ MNS:**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

**3. Thời gian làm xét nghiệm:** 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên S,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên S của hệ MNS [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti S loại IgM, các bước tiến hành tương tự như các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên S trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên S trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti S loại IgM bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN M CỦA HỆ NHÓM MÁU MNS**

**(Phương pháp gelcard)**

**Determination M antigen of MNS system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên M của hệ MNS bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti M loại IgG được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên M, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti M và cho phản ứng ngưng kết trong môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên M của hệ MNS:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### *2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao*

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

#### *2.2. Thuốc thử và hoá chất*

Anti M loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

#### *2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên M của hệ MNS*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên M**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên M của hệ MNS [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti M loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên M trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên M trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti M loại IgG bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN N CỦA HỆ NHÓM MÁU MNS**

**(Phương pháp gelcard)**

**Determination N antigen of MNS system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên N của hệ MNS bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti M loại IgG được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên M, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti M và cho phản ứng ngưng kết trong môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên M của hệ MNS:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

#### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

#### **2.2. Thuốc thử và hoá chất**

Anti N loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

#### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên N của hệ MNS**

Gồm một ống máu tĩnh đã mạch được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khô của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên N**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên N của hệ MNS [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti N loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên N trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên N trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti N loại IgG bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN $Lu^a$ CỦA HỆ NHÓM MÁU LUTHERAN**

## **(Phương pháp gelcard)**

### **Determination $Lu^a$ antigen of Lutheran system**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên  $Lu^a$  của hệ Lutheran bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti  $Lu^a$  loại IgG được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên  $Lu^a$ , các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti  $Lu^a$  và cho phản ứng ngưng kết trong môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên  $Lu^a$  của hệ Lutheran:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

##### **2. Phương tiện – Hóa chất**

###### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

###### **2.2. Thuốc thử và hoá chất:**

Anti  $Lu^a$  loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

###### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên $Lu^a$ của hệ Lutheran:**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

##### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

#### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên  $Lu^a$ ,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên Lu<sup>a</sup> của hệ Lutheran [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti Lu<sup>a</sup> loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên Lu<sup>a</sup> trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên Lu<sup>a</sup> trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co, LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti Lu<sup>a</sup> loại IgG bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN $Lu^b$ CỦA HỆ NHÓM MÁU LUTHERAN**

## **(Phương pháp gelcard)**

### **Determination $Lu^b$ antigen of Lutheran system**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên  $Lu^b$  của hệ Lutheran bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti  $Lu^b$  loại IgG được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên  $Lu^b$ , các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgG sẽ kết hợp với anti  $Lu^b$  và cho phản ứng ngưng kết trong môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên  $Lu^b$  của hệ Lutheran:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

##### **2. Phương tiện – Hóa chất**

**2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:** Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

**2.2. Thuốc thử và hoá chất:** Anti  $Lu^b$  loại IgG; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

**2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên  $Lu^b$  của hệ Lutheran:** Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

##### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

#### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khô của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên  $Lu^b$ ,** kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên  $Lu^b$  của hệ Lutheran [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti  $Lu^b$  loại IgG, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên  $Lu^b$  trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên  $Lu^b$  trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng anti  $Lu^b$  loại IgG bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN P1 CỦA HỆ NHÓM MÁU P1PK**

**(Phương pháp gelcard)**

**Determination P1 antigen of P1PK system**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên P1 của hệ P1Pk bằng phương pháp gelcard có nguyên lý như sau: Anti P1 loại IgM được cảm nhiễm với hồng cầu của những cá thể mang kháng nguyên P1, các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng là anti-IgM sẽ kết hợp với anti P1 và cho phản ứng ngưng kết trong môi trường có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

**Xác định kháng nguyên P1 của hệ P1PK:** Được chỉ định giống như chỉ định xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật ống nghiệm).

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao:**

Giống như trang thiết bị, dụng cụ, vật tư tiêu hao của kỹ thuật xác định kháng nguyên C của hệ Rh (Kỹ thuật gelcard).

#### **2.2. Thuốc thử và hoá chất:**

Anti P1 loại IgM; Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất; Tấm gelcard.

#### **2.3. Mẫu máu để xác định kháng nguyên P1 của hệ P1PK:**

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

### **3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút**

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm. Chuẩn bị dung dịch hồng cầu 0,5% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 5  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên P1**, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Tiến hành định nhóm kháng nguyên P1 của hệ P1Pk [2]:** Được thực hiện theo hướng dẫn sử dụng anti P1 loại IgM, các bước tiến hành tương tự với các bước xác định kháng nguyên C của hệ Rh bằng kỹ thuật gelcard.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên P1 trên bề mặt hồng cầu.
- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên P1 trên hồng cầu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn sử dụng anti P1 loại IgM bằng kỹ thuật gelcard.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



# **XÁC ĐỊNH KHÁNG NGUYÊN D TỪNG PHẦN ( $D^{VI}$ )**

**(Phương pháp gelcard)**

**Determination part D antigen ( $D^{VI}$ )**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật xác định kháng nguyên  $D^{VI}$  từng phần của hệ Rh bằng phương pháp gelcard được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết. Những hồng cầu đã được cảm nhiễm với các kháng thể  $D^{VI}$  sẽ kết hợp với các kháng  $\gamma$  globulin tương ứng có trong dung dịch đệm có ái lực cao ở 37°C [1], [2].

## **II. CHỈ ĐỊNH**

*Xác định kháng nguyên D từng phần ( $D^{VI}$ ) của hệ Rh được chỉ định trong những trường hợp sau:*

- Xét nghiệm cho người bệnh;
- Xét nghiệm cho người hiến máu;

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên, điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### *2.1. Trang thiết bị:*

Máy ủ gelcard chuyên dụng; Máy ly tâm gelcard chuyên dụng; Máy ly tâm ống thẳng có số vòng và thời gian chính xác để ly tâm ống máu; Tủ lạnh đựng sinh phẩm...

#### *2.2. Dụng cụ:*

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Bút marker; Pipet nhựa; Pipet tự động; Đầu côn các loại; Hộp đựng đầu côn; Giá đỡ gelcard.

#### *2.3. Thuốc thử và hoá chất:*

Tấm gelcard có sẵn anti  $D^{VI}$  Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất.

#### *2.4. Mẫu máu để xác định kháng nguyên D từng phần của hệ Rh:*

Gồm một ống máu tĩnh mạch đã được chống đông bằng EDTA: 2 ml.

#### *2.5. Vật tư tiêu hao:*

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm định nhóm máu; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

**3. Thời gian làm xét nghiệm:** 60 phút.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm đầy đủ** trước khi tiến hành xét nghiệm.

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu xác định kháng nguyên D từng phần ( $D^{VI}$ )** của người cần xác định kháng nguyên D từng phần, kiểm tra và đối chiếu các thông tin trên ống máu và phiếu xét nghiệm cho phù hợp.

**3. Chuẩn bị 1 ống nghiệm sạch, khô** ghi đầy đủ thông tin của người cần xác định kháng nguyên D từng phần lên nhãn ống nghiệm để pha dung dịch hồng cầu 0,8% (1000  $\mu$ l dung dịch LISS và 10  $\mu$ l hồng cầu khối của bệnh nhân/ người hiến máu).

**4. Tiến hành định nhóm kháng nguyên D từng phần của hệ Rh [2]:**

- **Bước 1:** Ghi đầy đủ thông tin của người bệnh/ người hiến máu lên tấm gelcard đã có sẵn kháng huyết thanh  $D^{VI}$

- **Bước 2:** Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel theo đúng quy định.

- **Bước 3:** Nhỏ 50  $\mu$ l dung dịch hồng cầu bệnh nhân/ người hiến máu 0.8% đã chuẩn bị ở trên vào giếng gelcard đã được ghi nhãn.

- **Bước 4:** Ủ tấm gelcard 15 phút ở 37°C trong máy ủ chuyên dụng.

- **Bước 5:** Ly tâm gelcard bằng máy ly tâm chuyên dụng trong 10 phút.

- **Bước 6:** Đọc kết quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất sinh phẩm.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Phản ứng ngưng kết: Có kháng nguyên  $D^{VI}$  trên hồng cầu;

- Phản ứng không ngưng kết: Không có kháng nguyên  $D^{VI}$  trên hồng cầu.

**Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

Giống như những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm xác định kháng nguyên C của hệ Rh.

### **Tài liệu tham khảo**

1. Geoff Daniels and Imelda Bromilow (2009), Essential Guide to Blood Groups, Blackwell.
2. Hướng dẫn xác định kháng nguyên  $D^{VI}$  của hãng DiaMed, Thụy Sĩ.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# SÀNG LỌC KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG

(Phương pháp ống nghiệm)

Screening irregular antibodies

## I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật sàng lọc kháng thể bất thường được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể sẽ xảy ra nếu trong huyết thanh của người bệnh, sản phụ và người hiến máu có kháng thể đặc hiệu với các kháng nguyên có trên bề mặt các hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường [1].

## II. CHỈ ĐỊNH

*Xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường được chỉ định trong những trường hợp sau:*

- Xét nghiệm cho người hiến máu;
- Xét nghiệm cho người bệnh mà trong quá trình điều trị được tiên lượng sẽ phải truyền máu;
- Xét nghiệm định kỳ cho người bệnh đã được truyền máu nhiều lần (7 ngày làm xét nghiệm một lần).

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Bác sĩ; cử nhân; kỹ thuật viên; điều dưỡng trung học.

### 2. Phương tiện – Hóa chất

#### 2.1. Trang thiết bị:

Máy ly tâm loại thông thường; Kính hiển vi; Bình cách thủy; tủ lạnh.

#### 2.2 Dụng cụ:

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Cốc thủy tinh có mỏ loại 500 ml; Bút marker; Pipet nhựa.

#### 2.3. Thuốc thử và hoá chất:

Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất, bộ panel hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường của Viện Huyết học Truyền máu trung ương; Kháng  $\gamma$  globulin người; dung dịch LISS.

#### 2.4. Mẫu bệnh phẩm:

- Ống máu chống đông bằng EDTA: 2 ml.

- Ống máu không chống đông: 5 ml.

## 2.5. Vật tư tiêu hao:

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

## 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm** trước khi tiến hành xét nghiệm.

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu làm xét nghiệm** sàng lọc kháng thể bất thường cho người bệnh, kiểm tra và đối chiếu các thông tin của người bệnh trên ống máu và phiếu xét nghiệm

**2. Chuẩn bị:** Ly tâm ống máu không chống đông của người bệnh để tách huyết thanh (2000 vòng/phút x 3 phút). Chuẩn bị hồng cầu 5% (1giọt hồng cầu khối của người bệnh + 19 giọt nước muối sinh lý 0,9%).

## 4. Tiến hành kỹ thuật qua các giai đoạn sau [1], [2]:

a. **Giai đoạn I:** (Điều kiện 22°C):

- **Bước 1:** Chuẩn bị 4 ống nghiệm sạch và ghi nhãn thứ tự từ O<sub>1</sub> đến O<sub>3</sub> và một ống để làm chứng tự thân; Ghi đầy đủ thông tin của người bệnh;

- **Bước 2:** Nhỏ 2 giọt huyết thanh của người bệnh lần lượt vào các ống nghiệm đã được ghi nhãn ở trên;

- **Bước 3:** Thêm 1 giọt hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> 5% lần lượt vào 3 ống nghiệm tương ứng, trộn đều;

- **Bước 4:** Ly tâm 1000 vòng/phút trong vòng 20 giây.

- **Bước 5:** Quan sát hiện tượng ngưng kết và tan máu và ghi lại kết quả.

b. **Giai đoạn II** (Điều kiện 37°C và kháng globulin người):

- **Bước 1:** Ủ tiếp các ống nghiệm trên ở bình cách thủy 37°C trong vòng 30 phút (nếu thêm 2 giọt LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).

- **Bước 2:** Ly tâm 1000 vòng trong 20 giây. Quan sát hiện tượng ngưng kết và tan máu và ghi lại kết quả.

- **Bước 3:** Rửa ống nghiệm trên 3 lần bằng nước muối 0,9%.

- **Bước 4:** Thêm 2 giọt kháng globulin người vào các ống nghiệm trên.

- **Bước 5:** Ly tâm 1000 vòng trong 20 giây.

- **Bước 6:** Quan sát hiện tượng ngưng kết và tan máu và ghi lại kết quả.

- **Bước 7:** Với những ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng.

- **Bước 8:** Ly tâm các ống nghiệm trên 1000 vòng trong 20 giây.
- **Bước 9:** Đọc kết quả và ghi lại mức độ ngưng kết. Phản ứng phải dương tính từ 2+ đến 3+. Nếu những ống nghiệm nào sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Nếu huyết thanh của người bệnh/ người hiến máu cho kết quả ngưng kết với 1 hoặc cả 2, 3 hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường và/hoặc ngưng kết với 1 trong 3 điều kiện nhiệt độ hoặc tất cả các điều kiện, nhiệt độ: Kết quả xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường dương tính.
- Nếu huyết thanh của người bệnh/người hiến máu không ngưng kết với cả 3 hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường và ở cả 3 điều kiện, nhiệt độ: Kết quả xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường âm tính.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

- Thực hiện kiểm chứng theo quy định của thông tư 26/ 2013/TT- BYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu [3].
- Đọc kỹ và tuân thủ đúng các bước tiến hành kỹ thuật theo hướng dẫn của nhà sản xuất sinh phẩm hiện đang sử dụng;

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng AHG loại IgG.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

**SÀNG LỌC KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG**  
**(Phương pháp Scangel/gelcard)**  
**Screening irregular antibodies**

**I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật sàng lọc kháng thể bất thường được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể sẽ xảy ra nếu trong huyết thanh của người bệnh, sản phụ và người hiến máu có các kháng thể đặc hiệu với các kháng nguyên tương ứng có trên bề mặt các hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường.

**II. CHỈ ĐỊNH**

*Xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường được chỉ định trong những trường hợp sau:*

- Xét nghiệm cho người hiến máu;
- Xét nghiệm cho người bệnh mà trong quá trình điều trị được tiên lượng sẽ phải truyền máu;
- Xét nghiệm định kỳ cho người bệnh đã được truyền máu nhiều lần (7 ngày làm xét nghiệm một lần).

**III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

**IV. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện**

Bác sĩ; cử nhân; kỹ thuật viên; điều dưỡng trung học.

**2. Phương tiện – Hóa chất**

*2.1. Trang thiết bị:*

Máy ly tâm chuyên dụng Scangel.; Máy ủ chuyên dụng Scangel.; Tủ lạnh dụng sinh phẩm, Máy ly tâm ống thẳng.

*2.2 Dụng cụ:*

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Cốc thủy tinh có mỏ loại 500 ml; Bút marker; Pipette tự động, đầu côn các loại.

*2.3 Thuốc thử và hoá chất:*

Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất, Bộ panel hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường của Viện Huyết học Truyền máu trung ương; Tấm gelcard AHG (Coombs) và tấm gelcard Neutral.

#### 2.4. Mẫu bệnh phẩm:

- Ống máu chống đông bằng EDTA: 2 ml.
- Ống máu không chống đông: 5 ml.

#### 2.5. Vật tư tiêu hao:

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác. Phiếu xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường.

#### 3. Thời gian làm xét nghiệm: 60 phút

### V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm** trước khi tiến hành xét nghiệm.

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu làm xét nghiệm** sàng lọc kháng thể bất thường cho người bệnh, kiểm tra và đối chiếu các thông tin của người bệnh trên ống máu và phiếu xét nghiệm. Kiểm tra số lượng, chất lượng mẫu máu.

**3. Chuẩn bị mẫu huyết thanh và hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường 0,8%:** Ly tâm ống máu không chống đông của người bệnh để tách huyết thanh (2000 vòng/phút x 3 phút). Chuẩn bị hồng cầu sàng lọc kháng thể bất thường và hồng cầu người bệnh 0,8% trong dung dịch LISS (1.000 µl dung dịch LISS và 10 µl hồng cầu khối O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub> và O<sub>3</sub> và hồng cầu khối của bệnh nhân).

#### 4. Các bước tiến hành kỹ thuật

**a. Sàng lọc kháng thể bất thường ở điều kiện nhiệt độ phòng 22°C:**

- **Bước 1:** Đánh số thứ tự từ O<sub>1</sub> đến O<sub>3</sub> và một để làm chứng tự thân lên tấm gelcard nước muối (O<sub>4</sub>). ghi thông tin bệnh nhân và ngày làm xét nghiệm lên tấm gelcard.
- **Bước 2:** Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel theo đúng quy định.
- **Bước 3:** Nhỏ lần lượt 50 µl dung dịch hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường 0,8% (O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub> và O<sub>3</sub>) đã chuẩn bị ở trên vào các giếng gelcard tương ứng thứ tự.
- **Bước 4:** Nhỏ 50 µl dung dịch hồng cầu bệnh nhân 0,8% đã chuẩn bị ở trên vào giếng gelcard tự chứng (O<sub>4</sub>).
- **Bước 5:** Nhỏ thêm 25 µl huyết thanh của người bệnh vào tất cả các giếng gelcard trên.
- **Bước 6:** Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.
- **Bước 7:** Ly tâm tấm gelcard trong 10 phút bằng máy quay ly tâm gelcard chuyên dụng.
- **Bước 8:** Đọc kết quả theo hướng dẫn của công ty sản xuất sinh phẩm.

***b. Sàng lọc kháng thể bất thường ở 37°C và kháng globulin người:***

- **Bước 1:** Đánh số thứ tự từ O<sub>1</sub> đến O<sub>3</sub> và 1 giếng tên người bệnh lên tấm gelcard AHG. ghi thông tin bệnh nhân và ngày làm xét nghiệm lên tấm gelcard.

- **Bước 2:** Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel theo đúng quy định.

- **Bước 3:** Nhỏ lần lượt 50 µl dung dịch hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường 0,8% đã chuẩn bị ở trên vào các giếng gelcard tương ứng đã được đánh số thứ tự từ O<sub>1</sub> đến O<sub>3</sub>.

- **Bước 4:** Nhỏ 50 µl dung dịch hồng cầu bệnh nhân 0,8% đã chuẩn bị ở trên vào giếng gelcard O<sub>4</sub>.

- **Bước 5:** Nhỏ thêm 25 µl huyết thanh của người bệnh vào tất cả các giếng gelcard trên.

- **Bước 6:** Ủ tấm gelcard ở 37°C 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.

- **Bước 7:** Ly tâm tấm gelcard 10 phút bằng máy ly tâm chuyên dụng.

- **Bước 8:** Đọc kết quả theo hướng dẫn của công ty sản xuất sinh phẩm.

**VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Nếu phản ứng ngưng kết với 1 hoặc cả 2, 3 hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường, ngưng kết với 1 trong 3 điều kiện nhiệt độ và/hoặc cả 3 điều kiện, nhiệt độ: Kết quả xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường dương tính.

- Nếu phản ứng không ngưng kết với cả 3 hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường, với cả 3 điều kiện, nhiệt độ: Kết quả xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường âm tính.

**Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

1. Thực hiện kiểm chứng theo quy định của thông tư 26/ 2013/TT- BYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu [3].
2. Đọc kỹ và tuân thủ đúng các bước tiến hành kỹ thuật theo hướng dẫn của nhà sản xuất sinh phẩm hiện đang sử dụng;

**Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng AHG Gel Card và Neutral Gel Card của Công ty TULIP DIAGNOSTICS, Ấn Độ.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.



# **ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG**

**(Phương pháp ống nghiệm)**

**Identification irregular antibodies**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật định danh kháng thể bất thường được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể sẽ xảy ra nếu trong huyết thanh của người bệnh hoặc sản phụ có kháng thể đặc hiệu với các kháng nguyên có trên bề mặt các hồng cầu định danh kháng thể bất thường.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

*Xét nghiệm định danh kháng thể bất thường được chỉ định trong những trường hợp sau:*

- Người hiến máu có kết quả xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường dương tính;
- Người bệnh có kết quả xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường dương tính.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ; cử nhân; kỹ thuật viên; điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### *2.1. Trang thiết bị:*

Máy ly tâm loại thông thường; Kính hiển vi; Bình cách thủy; tủ lạnh.

#### *2.2 Dụng cụ:*

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cắm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Cốc thủy tinh có mỏ loại 500 ml; Bút marker; Pipet nhựa.

#### *2.3. Thuốc thử và hoá chất:*

Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất, bộ panel hồng cầu định danh kháng thể bất thường của Viện Huyết học Truyền máu trung ương; Kháng globulin người; dung dịch LISS.

#### *2.4. Mẫu bệnh phẩm:*

- Ống máu chống đông bằng EDTA: 2 ml.
- Ống máu không chống đông: 5 ml.

#### *2.5. Vật tư tiêu hao:*

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

**3. Thời gian làm xét nghiệm:** 120 phút

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm** trước khi tiến hành xét nghiệm.

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu làm xét nghiệm** định danh kháng thể bất thường cho người hiến máu/người bệnh, kiểm tra và đối chiếu các thông tin của người bệnh/ NHM trên ống máu và phiếu xét nghiệm.

**3. Chuẩn bị:** Ly tâm ống máu không chống đông của người bệnh để tách huyết thanh (2000 vòng/phút x 3 phút). Chuẩn bị hồng cầu 5% (1giọt hồng cầu khối của người bệnh + 19 giọt nước muối sinh lý 0,9%).

**4. Tiến hành kỹ thuật qua các giai đoạn sau [1], [2]**

**a. Định danh kháng thể bất thường ở 22°C:**

- **Bước 1:** Chuẩn bị 11 ống nghiệm sạch và ghi nhãn thứ tự từ O<sub>1</sub> đến O<sub>10</sub> và một ống để làm chứng tự thân; Ghi đầy đủ thông tin của người bệnh;

- **Bước 2:** Nhỏ 2 giọt huyết thanh của người bệnh lần lượt vào các ống nghiệm đã được ghi nhãn ở trên;

- **Bước 3:** Thêm 1 giọt hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường từ O<sub>1</sub>, đến O<sub>10</sub> lần lượt vào 10 ống nghiệm tương ứng; Thêm 1 giọt hồng cầu người bệnh vào ống tự chứng, trộn đều;

- **Bước 4:** Ly tâm 1000 vòng trong 20 giây.

- **Bước 5:** Quan sát hiện tượng ngưng kết và tan máu. Ghi lại kết quả.

**b. Định danh kháng thể bất thường ở 37°C và kháng globulin người:**

- **Bước 1:** Ủ tiếp các ống nghiệm trên ở bình cách thủy 37°C trong 30 phút (nếu thêm 2 giọt đệm LISS vào ống nghiệm trước khi ủ thì chỉ ủ 15 phút).

- **Bước 2:** Ly tâm 1000 vòng trong 20 giây. Quan sát hiện tượng ngưng kết và tan máu, ghi lại kết quả.

- **Bước 3:** Rửa ống nghiệm trên 3 lần bằng nước muối 0,9%.

- **Bước 4:** Thêm 2 giọt kháng globulin người vào các ống nghiệm trên.

- **Bước 5:** Ly tâm 1000 vòng/phút trong vòng 20 giây.

- **Bước 6:** Quan sát hiện tượng ngưng kết và tan máu, ghi lại kết quả.

- **Bước 7:** Với những ống nghiệm cho kết quả âm tính, nhỏ thêm 1 giọt hồng cầu chứng. Ly tâm các ống nghiệm trên 1000 vòng trong 20 giây.

- **Bước 8:** Đọc kết quả và ghi lại mức độ ngưng kết. Phản ứng phải dương tính từ 2+ đến 3+. Nếu những ống nghiệm nào sau khi nhỏ hồng cầu chứng mà âm tính thì phải làm lại xét nghiệm từ đầu.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Dựa trên kết quả và mức độ ngưng kết giữa huyết thanh của người bệnh/ người hiến máu với các hồng cầu panel định danh kháng thể bất thường trong từng giai đoạn xét nghiệm ở trên để xác định tên của các kháng thể bất thường.

- Định nhóm kháng nguyên cho người hiến máu/ người bệnh, kết quả kháng nguyên nhóm máu tương ứng với kháng thể bất thường khi được xác định phải không có trên bề mặt hồng cầu người bệnh/ người hiến máu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

1. Thực hiện kiểm chứng theo quy định của thông tư 26/ 2013/TT- BYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu [3].
2. Đọc kỹ và tuân thủ đúng các bước tiến hành kỹ thuật theo hướng dẫn của nhà sản xuất sinh phẩm hiện đang sử dụng;

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng AHG của Công ty TULIP DIAGNOSTICS, Ấn Độ.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **ĐỊNH DANH KHÁNG THỂ BẤT THƯỜNG**

**(Phương pháp gelcard)**

**Identification irregular antibodies**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật định danh kháng thể bất thường được dựa trên nguyên lý của phản ứng ngưng kết, phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể sẽ xảy ra nếu trong huyết thanh của người bệnh hoặc sản phụ có kháng thể đặc hiệu với các kháng nguyên tương ứng có trên bề mặt các hồng cầu định danh kháng thể bất thường.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

*Xét nghiệm định danh kháng thể bất thường được chỉ định trong những trường hợp sau:*

- Người hiến máu có kết quả xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường dương tính;
- Người bệnh có kết quả xét nghiệm sàng lọc kháng thể bất thường dương tính;

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ; cử nhân; kỹ thuật viên; điều dưỡng trung học.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### *2.1. Trang thiết bị:*

Máy ly tâm chuyên dụng Scangel.; Máy ủ chuyên dụng Scangel.; Tủ lạnh dụng sinh phẩm, Máy ly tâm ống thẳng.

#### *2.2 Dụng cụ:*

Ống nghiệm thủy tinh: 12x75mm; Giá cầm ống nghiệm; Khay men hình chữ nhật: 25x30 cm; Cốc thủy tinh có mỏ loại 500 ml; Bút marker; Pipette tự động, đầu côn các loại.

#### *2.3 Thuốc thử và hoá chất:*

Nước muối sinh lý 0,9%; Nước cất, Bộ panel hồng cầu định danh kháng thể bất thường của Viện Huyết học Truyền máu trung ương; Tấm gelcard AHG (Coombs) và tấm gelcard Neutral.

#### *2.4. Mẫu bệnh phẩm:*

- Ống máu chống đông bằng EDTA: 2 ml.

- Ống máu không chống đông: 5 ml.

## 2.5. Vật tư tiêu hao:

Sổ ghi kết quả; Phiếu xét nghiệm; Mũ giấy; Khẩu trang; Găng tay; Quần áo công tác.

**3. Thời gian làm xét nghiệm:** 120 phút

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Chuẩn bị dụng cụ, hoá chất, sinh phẩm** trước khi tiến hành xét nghiệm.

**2. Nhận bệnh phẩm và phiếu yêu cầu làm xét nghiệm** định danh kháng thể bất thường cho người bệnh, kiểm tra và đối chiếu các thông tin của người bệnh trên ống máu và phiếu xét nghiệm. Kiểm tra số lượng, chất lượng mẫu máu.

**3. Chuẩn bị mẫu huyết thanh và hồng cầu người bệnh và hồng cầu định danh kháng thể bất thường 0,8%** (1.000 µl dung dịch LISS và 10 µl hồng cầu khối O<sub>1</sub> đến O<sub>10</sub> và hồng cầu khối của bệnh nhân). Ly tâm ống máu không chống đông của người bệnh để tách huyết thanh (2000 vòng/phút x 3 phút).

**4. Các bước tiến hành kỹ thuật [1], [2]**

**a. Định danh kháng thể bất thường ở điều kiện nhiệt độ phòng 22°C:**

- **Bước 1:** Đánh số thứ tự từ O<sub>1</sub> đến O<sub>10</sub> và một giếng để làm chứng tự thân lên tấm gelcard nước muối, ghi thông tin bệnh nhân và ngày làm xét nghiệm lên tấm gelcard.

- **Bước 2:** Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel theo đúng quy định.

- **Bước 3:** Nhỏ lần lượt 50 µl dung dịch hồng cầu panel định danh kháng thể bất thường 0,8% đã chuẩn bị ở trên vào các giếng gelcard tương ứng thứ tự từ O<sub>1</sub> đến O<sub>10</sub>.

- **Bước 4:** Nhỏ 50 µl dung dịch hồng cầu bệnh nhân 0,8% đã chuẩn bị ở trên vào giếng gelcard chứng tự thân.

- **Bước 5:** Nhỏ thêm 25 µl huyết thanh của người bệnh vào tất cả các giếng gelcard trên.

- **Bước 6:** Ủ tấm gelcard ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút.

- **Bước 7:** Ly tâm tấm gelcard trong vòng 10 phút bằng máy quay ly tâm gelcard chuyên dụng.

- **Bước 8:** Đọc kết quả theo hướng dẫn của công ty sản xuất sinh phẩm.

**b. Định danh kháng thể bất thường ở 37°C và kháng globulin người:**

- **Bước 1:** Đánh số thứ tự từ O<sub>1</sub> đến O<sub>10</sub> và 1 giếng chứng tự thân lên tấm gelcard AHG. ghi thông tin bệnh nhân và ngày làm xét nghiệm lên tấm gelcard.

- **Bước 2:** Mở tấm bảo vệ phủ lên các cột gel theo đúng quy định.
- **Bước 3:** Nhỏ lần lượt 50 µl dung dịch hồng cầu panel sàng lọc kháng thể bất thường 0,8% đã chuẩn bị ở trên vào các giếng gelcard tương ứng đã được đánh số thứ tự từ O<sub>1</sub> đến O<sub>10</sub>.
- **Bước 4:** Nhỏ 50 µl dung dịch hồng cầu bệnh nhân 0,8% đã chuẩn bị ở trên vào giếng gelcard chứng tự thân.
- **Bước 5:** Nhỏ thêm 25 µl huyết thanh của người bệnh vào tất cả các giếng gelcard trên.
- **Bước 6:** Ủ tấm gelcard ở 37°C 15 phút bằng máy ủ gelcard chuyên dụng.
- **Bước 7:** Ly tâm tấm gelcard 10 phút bằng máy ly tâm chuyên dụng.
- **Bước 8:** Đọc kết quả theo hướng dẫn của Nhà sản xuất sinh phẩm.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Dựa trên kết quả và mức độ ngưng kết giữa huyết thanh của người bệnh/ người hiến máu với các hồng cầu panel định danh kháng thể bất thường trong từng giai đoạn xét nghiệm ở trên để xác định tên của các kháng thể bất thường.
- Định nhóm kháng nguyên cho người hiến máu/ người bệnh, kết quả kháng nguyên nhóm máu tương ứng với kháng thể bất thường khi được xác định phải không có trên bề mặt hồng cầu người bệnh/ người hiến máu.

### **Những điểm cần chú ý khi làm xét nghiệm:**

- Thực hiện kiểm chứng theo quy định của thông tư 26/ 2013/TT- BYT về Hướng dẫn hoạt động truyền máu [3].
- Đọc kỹ và tuân thủ đúng các bước tiến hành kỹ thuật theo hướng dẫn của nhà sản xuất sinh phẩm hiện đang sử dụng;

### **Tài liệu tham khảo**

1. Denise M Harmening (1999) Modern blood banking and transfusion practices, fourth edition, Book Promotion & Service Co., LTD.
2. Hướng dẫn sử dụng AHG Gel Card và Neutral Gel Card.
3. Thông tư 26/2013/TT- BYT đã được ban hành ngày 16/9/2013 về Hướng dẫn hoạt động truyền máu.

# **GẠN TẾ BÀO MÁU TỪ MÁU NGOẠI VI**

(Dành cho người hiến máu thành phần)

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kỹ thuật gạn tách tế bào máu từ máu ngoại vi (Kỹ thuật Apheresis) là một quy trình từ lấy máu toàn phần từ người hiến máu (đối tượng) vào một thiết bị để ly tâm phân tách các thành phần của máu và thu nhận một thành phần tế bào máu theo yêu cầu và truyền trả các thành phần còn lại cho đối tượng.

Hệ thống máy gạn tách tế bào máu có 2 loại: Sử dụng kỹ thuật dòng chảy ngắt quãng (có 1 đường vừa lấy máu ra và trả về) và sử dụng kỹ thuật dòng chảy liên tục (đường lấy máu ra và trả về khác nhau).

Các loại máy gạn tách thành phần máu tự động.

Các sản phẩm gạn tách tế bào máu: Khối hồng cầu, tiểu cầu, bạch cầu...

## **II. CHỈ ĐỊNH**

- Tình nguyện hiến thành phần tế bào máu gạn tách;
- Đạt tiêu chuẩn về hiến thành phần máu;
- Tình trạng ven tốt.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

- Không đạt các tiêu chuẩn về hiến thành phần máu;
- Tình trạng ven không cho phép.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Cán bộ được đào tạo về gạn tách tế bào máu: 1 bác sĩ và 1 kỹ thuật viên;
- Rửa tay thường quy, đi găng cao su.

### **2. Phương tiện**

- Máy gạn tách thành phần máu tự động.
- Bộ thu nhận tiểu cầu phù hợp (máy và thành phần gạn tách)
- Chất chống đông ACD-A
- Dụng cụ sát trùng: Bông cồn iod, panh, băng dính, bơm tiêm 5ml;
- Bút marker, bút viết, barcode;
- Máy đo huyết áp đồng hồ/dây ga rô, quả bóp...

### **3. Đối tượng**

- Tiếp nhận và giải thích quy trình;
- Chuẩn bị tư thế nằm và tay sẽ thực hiện lấy ven.

#### **4. Hồ sơ**

- Phiếu đăng ký hiến máu, các phiếu xét nghiệm;
- Phiếu theo dõi chương trình gạn tách tế bào máu.

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Kiểm tra hồ sơ**

- Kiểm tra các thông tin hành chính;
- Kết quả tổng phân tích máu, nhóm máu, xét nghiệm HBsAg...
- Kiểm tra lại mạch; huyết áp và tình trạng lâm sàng.

#### **2. Thực hiện kỹ thuật**

Bước 1: Bật máy và chọn chương trình

Bước 2: Lắp đặt bộ thu nhận tế bào

- Lắp đặt bộ thu nhận: Theo các bước CBC;
- Kết nối bộ thu nhận với túi ACD (và NaCl 0,9%);
- Thực hiện đuổi khí và tráng dung dịch chống đông (ACD-A).

Bước 3: Nhập chỉ số và chọn kết quả dự kiến

- Giới tính; Cân nặng; Chiều cao; Hematocrit; Số lượng tiểu cầu/bạch cầu;
- Chọn kết quả dự kiến sẽ gạn tách.

Bước 4: Kết nối với đối tượng

- Quấn băng đo huyết áp trên khuỷu tay và bơm ở huyết áp trung bình;
- Chọn vị trí chọc ven, sát trùng, lấy ven và cố định kim.

Bước 5: Lấy mẫu máu xét nghiệm

- Mở khoá để máu vào túi xét nghiệm khoảng 8ml và đóng khoá;
- Lấy máu xét nghiệm vào ống đông và ống chống đông.
- Bấm nút để bắt đầu chương trình gạn tách.

Bước 6: Máy thực hiện gạn tách tế bào máu

- Máy thực hiện gạn tách theo chương trình lựa chọn;
- Kết thúc gạn tách tế bào máu;
- Trả máu còn lại trong bộ kit về cho đối tượng.

Bước 7: Kết thúc chương trình chạy máy:

- Dừng máy;
- Khóa các van vào, ra và các túi chứa sản phẩm;
- Rút kim ra khỏi đối tượng;
- Tháo kit ra khỏi máy;
- Hàn dây và tách túi sản phẩm ra khỏi bộ kit;



- Ghi chép kết quả chương trình gạn tách và thủ tục hành chính.

**Bước 8:** Lấy mẫu kiểm tra chất lượng khối tế bào máu thu nhận

- Lắc đều túi tế bào máu gạn tách;
- Lấy 3-4 ml sản phẩm vào túi đựng và lấy mẫu kiểm tra chất lượng.

**Bước 9:** Kết thúc và bàn giao:

- Ghi lại kết quả vào hồ sơ;
- Ký tên người thực hiện;
- Bàn giao khối tế bào gạn tách, mẫu xét nghiệm.

## **VI. THEO DÕI**

- Theo dõi diễn biến các thông số của đối tượng;
- Theo dõi diễn biến trong quá trình vận hành của máy;
- Theo dõi kết quả gạn tách tế bào máu;
- Ghi hồ sơ theo dõi.

## **VII. NHỮNG TAI BIẾN VÀ XỬ TRÍ**

Các trường hợp phản ứng hầu hết do quá nhạy cảm, có yếu tố tâm lý: Sự chuẩn bị tư tưởng không tốt, sự lo lắng của đối tượng...

a/- Các biểu hiện phản ứng bất thường:

- *Nhẹ*: Biểu hiện xây xẩm nhưng không mất đi sự nhận biết;
- *Vừa*: Có sự tăng nhanh của phản ứng nhẹ và dẫn đến sự mất nhận biết;
  - *Nặng*: Có các biểu hiện trên kèm theo sự co giật (ít gặp).

b/- Xử trí các trường hợp phản ứng trung bình và nặng:

- Không tiếp tục thực hiện gạn tách;
- Nhấc cao chân và hạ thấp đầu của người hiến máu;
- Nói lỏng hoặc cởi những áo quá chật, tạo không khí thoáng;
- Trường hợp đối tượng bị nôn: Nằm nghiêng, có đồ chứa chất nôn;
- Kiểm tra biểu hiện ngoài và mạch thường xuyên;
- Nếu tình trạng tốt lên cho đối tượng uống nước mát, nghỉ ngơi đầy đủ;
- Đảm bảo đối tượng hồi phục hoàn toàn trước khi rời nơi thực hiện kỹ thuật;
- Trường hợp các cơn co giật kéo dài hơn 5 phút, đây là tình trạng cấp cứu, bác sĩ phải có mặt và có thể tiêm Diazepam vào tĩnh mạch.
- Ghi lại phản ứng vào hồ sơ.

### **Ghi chú:**

Đây là quy trình kỹ thuật gạn tách tế bào máu từ máu ngoại vi chung cho các máy, trình tự một số bước và yêu cầu cụ thể có thể khác nhau phụ thuộc vào:

- Hệ thống máy gạn tách khác nhau;
- Loại tế bào gạn tách có quy trình khác nhau.

**CHƯƠNG V.**  
**KỸ THUẬT CÔNG NGHỆ TẾ BÀO GỐC ỨNG DỤNG TRONG Y HỌC**  
**(Applications of Stem cell techniques in Medicine)**

**TUYỂN CHỌN NGƯỜI CHO VÀ HUY ĐỘNG TẾ BÀO GỐC**  
**MÁU NGOẠI VI**

**I. NGUYÊN LÝ**

Tuyển chọn người khỏe mạnh để đảm bảo chiết tách đủ số lượng tế bào gốc (TBG) tối thiểu cần truyền cho người bệnh là  $\geq 3 \times 10^6$  tế bào CD34+/kg cân nặng người bệnh nếu ghép đồng loại.

Tuyển chọn người bệnh (Đa u tủy xương, U lympho không Hodgkin và Hodgkin, Lơ xê mi cấp dòng tủy) đủ tiêu chuẩn ghép để gạn tế bào gốc với số lượng  $\geq 2 \times 10^6$  nếu ghép tự thân.

**II. CHỈ ĐỊNH**

- Ghép tế bào gốc tạo máu tự thân điều trị bệnh: Đa u tủy xương, U lympho không Hodgkin, Hodgkin và lơ xê mi cấp dòng tủy...

- Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loại điều trị các bệnh máu: Suy tủy xương, Đái huyết sắc tố niệu kịch phát ban đêm, Lơ xê mi cấp và kinh dòng bạch cầu hạt, Rối loạn sinh tủy...

**III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

**1. Người hiến khỏe mạnh**

Bất cứ tiêu chí nào dưới đây:

- Phụ nữ có thai hoặc đang cho con bú;
- Tuổi dưới 10 hoặc trên 60;
- Cân nặng  $\geq 20\text{kg}$ ;
- Có bệnh lý về gan, thận, phổi và tim;
- Mắc các bệnh lý ác tính khác có nguy cơ tái phát hay tiến triển trong vòng 5 năm.

**2. Người hiến là người bệnh**

- Tuổi trên 65 đối với Đa u tủy xương và U lympho ác tính; trên 50 tuổi đối với lơ xê mi cấp;
- Thể trạng người bệnh kém;

- Người bệnh không đáp ứng với hoá chất khi điều trị vòng 2 hoặc không đạt lui bệnh hoàn toàn đối với nhóm lơ xê mi cấp;
- Người bệnh có các bệnh lý về gan, thận, phổi và bệnh tim;
- Người nhà và người bệnh không đồng ý ghép.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện:**

- Bác sĩ;
- Điều dưỡng;
- Kỹ thuật viên.

##### **2. Phương tiện - Hóa chất**

###### **2.1 Phương tiện**

- Bơm tiêm;
- Máy tách tế bào....;
- Máy bảo quản âm sâu tế bào gốc.

###### **2.2. Hóa chất**

- Hóa chất xét nghiệm: làm các xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu, HLA, sinh hóa, vi sinh....;
- Thuốc: G-CSF, canxi, dung dịch Natrclurua 0,9%;

##### **3. Người hiến tế bào gốc**

Được giải thích kỹ về mục đích tiến hành kiểm tra lựa chọn và quy trình tiến hành gạn tácg tế bào gốc. Người cho tế bào gốc được theo dõi và kiểm tra định kỳ trong và sau khi tiến hành gạn tế bào gốc.

##### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi và túi tế bào gốc;
- Sinh hóa;
- HLA cho ghép tủy;
- Phiếu xét nghiệm HBV, HCV, HIV;
- Anti CMV (IgG, IgM), anti EBV (IgG, IgM);
- Phiếu siêu âm;
- Đếm CD34 máu ngoại vi và túi tế bào gốc;
- Các xét nghiệm đặc thù khác: tỷ lệ tế bào 1 nhân, cấy túi tế bào gốc

#### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

## **1. Quy trình chọn người hiến tế bào gốc; huy động, thu gom và bảo quản tế bào gốc từ người hiến**

### **1.1. Tiêu chuẩn chọn người hiến**

#### **1.1.1. Tiêu chuẩn chọn người hiến ghép TBG đồng loại.**

Những người hiến có các tiêu chuẩn sau được lựa chọn hiến tế bào gốc để ghép cho người bệnh:

- Tuổi trên 10 hoặc dưới 60;
- Cân nặng  $\geq 20\text{kg}$ .
- Anh, chị em ruột của người bệnh phù hợp về HLA-A, B và DR, tối thiểu 5/6 allel với người bệnh;
- Không bị nhiễm HBV, HCV và HIV;
- Hoàn toàn khỏe mạnh, không mắc các bệnh mạn tính.

#### **1.1.2. Tiêu chuẩn chọn người bệnh ghép TBG tự thân gạn TBG.**

##### **1.1.2.1. Đa u tủy xương**

- Sau điều trị tấn công đạt lui bệnh hoàn toàn hoặc lui bệnh một phần, chưa điều trị thuốc ảnh hưởng đến TBG như melphalan...

- Thể trạng lâm sàng tốt.
- Không có các bệnh về thần kinh, tâm thần, gan, thận, tim, phổi.

##### **1.1.2.2. U lympho không Hodgkin (ULPKH)**

- Thể trạng lâm sàng tốt.
- Không có các bệnh về thần kinh, tâm thần, gan, thận, tim, phổi;
- Thời điểm chỉ định ghép: tùy từng thể như sau:

+ ULPKH thể tiến triển [4]:

- DLBCL, PTCL, ALCL: chỉ định ghép tự thân khi kháng với điều trị từ đầu hoặc sau khi tái phát điều trị vòng 2 có đáp ứng hoá chất.
- MCL: chỉ định ghép tự thân ngay sau khi điều trị tấn công đạt lui bệnh.
- ULPKH tế bào T: sau đáp ứng với hoá chất vòng 1 hoặc sau tái phát điều trị cứu vãn vòng 2 có đáp ứng với hoá chất.

+ ULPKH thể âm thầm: ULP thể nang, ULP tế bào dạng lympho và plasmo, ULP tổ chức lympho liên quan màng nhày, ULP tế bào lympho nhỏ và ULP thể vùng rìa lách: chỉ định ghép tự thân cho các trường hợp tái phát điều trị cứu vãn vòng 2 còn đáp ứng với hoá chất.

##### **1.1.2.3. Bệnh Hodgkin**

- Thời điểm chỉ định ghép tự thân: ở các người bệnh kháng thuốc hoặc sau tái phát.

- Thể trạng lâm sàng tốt.

- Không có các bệnh về thần kinh, tâm thần, gan, thận, tim, phổi..

#### *1.1.2.4. Lơ xê mi cấp dòng tủy*

- Chẩn đoán lơ xê mi cấp dòng tủy nhóm nguy cơ trung bình hoặc cao sau điều trị lui bệnh hoàn toàn đợt 1 hoặc nhóm nguy cơ thấp tái phát điều trị đạt lui bệnh hoàn toàn đợt 2.

- Thể trạng lâm sàng tốt.

- Không có các bệnh về thần kinh, tâm thần, gan, thận, tim, phổi.

### **1.2. Các xét nghiệm trước ghép của người hiến khỏe mạnh**

#### **Bước 1:**

+ Xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu, các xét nghiệm về chức năng gan thận của người hiến;

+ Xét nghiệm định nhóm HLA-A, B, DR anh, chị em ruột bằng kỹ thuật sinh học phân tử;

+ Xét nghiệm các xét nghiệm về HBV, HCV, HIV bằng kỹ thuật ELISA.

#### **Bước 2: Nếu phù hợp HLA**

+ Xét nghiệm CMV (IgG, IgM) và EBV (IgG, IgM) bằng kỹ thuật ELISA;

+ Định nhóm máu hệ ABO, Rh, phenotype;

+ Siêu âm kiểm tra tổng quát người hiến.

### **1.3. Các xét nghiệm trước ghép của người bệnh**

+ Xét nghiệm tủy đồ và sinh thiết tủy xương.

+ Các xét nghiệm đánh giá lui bệnh của người bệnh đa u tủy xương, u lympho không Hodgkin và Hodgkin và lơ xê mi cấp dòng tủy.

## **2. Quy trình chiết tách người cho tế bào gốc: huy động, thu gom và bảo quản tế bào gốc.**

### **2.1. Người hiến khỏe mạnh**

2.1. Huy động người hiến tế bào gốc được tiêm dưới da G-CSF 10 $\mu$ g/kg cân nặng/ngày, chia hai lần.

2.2. Tiến hành kiểm tra số lượng bạch cầu hàng ngày và số lượng tế bào CD34+ sau khi tiêm G-CSF và ngày thứ 4 bằng máy flow cytometry. Khi số lượng tế bào CD34+ đạt trên 10 tế bào/ $\mu$ l.

## **2.2. Người bệnh**

- Huy động TBG ở người bệnh: có một số phương pháp sau:

+ Kích bạch cầu G-CSF đơn thuần: với liều 10 µg/kg/ngày chia 2 lần cách nhau mỗi 12 giờ. Đếm số lượng bạch cầu hàng ngày và số lượng tế bào CD34+ từ ngày thứ 4. Khi số lượng tế bào CD34+ > 10 tế bào/µl thì tiến hành gạn TBG máu ngoại vi. Thường đỉnh huy động đạt cao nhất sau huy động G-CSF đơn thuần là ngày thứ 4-5.

+ Phối hợp hoá chất và G-CSF: thường chỉ định khi tiên lượng huy động kém nếu chỉ sử dụng G-CSF đơn thuần (tỷ lệ xảy ra từ 5-30%), và thường do một số nguyên nhân sau: đã điều trị trước đó bằng những thuốc ảnh hưởng đến tế bào gốc, người bệnh lớn tuổi, đã điều trị tia xạ và có tế bào ác tính xâm lấn tuỷ xương.

\* Với đa u tuỷ xương: Cyclophosphamide (liều 2g/m<sup>2</sup>, 1 lần) phối hợp với G-CSF ( thường bắt đầu từ ngày thứ 6 sau điều trị hoá chất). Thời điểm đạt huy động tế bào gốc cao nhất phụ thuộc tính cá thể từng người bệnh, thông thường sau 10-20 ngày kể từ khi bắt đầu điều trị hoá chất.

\* Với U lympho Hodgkin và không Hodgkin: sau đợt điều trị cứu vãn những người bệnh tái phát hoặc sau đợt cuối điều trị tấn công bằng các phác đồ : ICE, IEV, DHAP hoặc ESHAP kết hợp G-CSF để huy động tế bào gốc.

+ Plerixafor (AMD3100): đơn thuần hay phối hợp G-CSF hoặc phối hợp hoá chất.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Tuyển chọn được người hiến khỏe mạnh phù hợp HLA tối thiểu 5/6 allel.

- Tuyển chọn được người bệnh đủ điều kiện để gạn TBG.

- Ghép đồng loại: Thu gom đủ số lượng tế bào gốc tối thiểu 3x10<sup>6</sup> tế bào CD 34+/kg cân nặng người bệnh.

- Ghép tự thân: Thu gom đủ số lượng tế bào gốc tối thiểu 2x10<sup>6</sup> tế bào CD 34+/kg cân nặng người bệnh cho một lần ghép.

## **VII. TÁC DỤNG PHỤ VÀ XỬ TRÍ**

- Tác dụng phụ ở người hiến khi sử dụng G-CSF: đau xương, đau đầu, tăng LDH, acid uric, tăng huyết áp, lách to. Xử trí bằng giảm đau, hạ huyết áp.

- Tác dụng phụ ở người hiến trong khi thu gom tế bào gốc: đau đầu, tê vùng môi, chuột rút, rét run. Xử trí bằng truyền canxi, corticoid.

## **THU NHẬN MÁU DÂY RÓN**

(Umbilical cord blood collection)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Lấy máu từ bánh rau và dây rốn sau đẻ thai qua tĩnh mạch dây rốn vào túi đeo có chất chống đông ngay sau khi cắt rốn của trẻ.

Nguồn gốc kỹ thuật: theo quy trình kỹ thuật của Hiệp hội Ngân hàng máu Mỹ (AABB).

### **II. CHỈ ĐỊNH**

#### **1. Với sản phụ**

- Đồng ý cho việc lưu giữ máu dây rốn của con mình trên cơ sở đã được tư vấn và hướng dẫn đầy đủ về lợi ích, mục đích và các quy trình sẽ thực hiện;
- Không có các bệnh lý kèm theo trước khi sinh: bệnh bẩm sinh, bệnh lao, bệnh ung thư, bệnh tự miễn, bệnh tâm thần và các bệnh lý về sản khoa;
- Các xét nghiệm sàng lọc HIV, HBV, HCV, CMV-IgM, giang mai có kết quả âm tính;
- Không có các tai biến sản khoa;
- Không sốt trong lúc chuyển dạ ( $< 38^{\circ}\text{C}$ ).

#### **2. Với thai nhi**

- Tuổi thai trên 36 tuần;
- Sinh trước 24h tính từ lúc vỡ ối;
- Cân nặng trẻ sơ sinh  $\geq 2800$  g.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

#### **1. Vi phạm một hoặc nhiều các tiêu chuẩn chỉ định trên**

#### **2. Sau khi sinh**

- Đa thai (đối với thu thập cho ngân hàng máu dây rốn cộng đồng);
- Trẻ có dị tật bẩm sinh khi sinh ra;
- Dây rốn quá ngắn, bị đứt rời, dập nát, hư hỏng;
- Bánh rau bị nghi ngờ nhiễm trùng lúc thu thập (thu thập sau sổ rau).

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**



Được đào tạo phù hợp để thực hiện kỹ thuật.

## **2. Phương tiện - Hóa chất**

### **2.1. Dụng cụ**

- Xe thu thập mẫu;
- Bộ thu thập và túi thu thập máu dây rốn;
- Quần áo, mũ, khẩu trang vô trùng;
- Gạc hấp, găng tay vô trùng;
- Cân khối lượng nhỏ từ 0 - 500 gram;
- Ống xét nghiệm có chất chống đông EDTA;
- Phiếu thu thập máu dây rốn, các loại bút viết;

### **2.2. Hóa chất**

- Cồn 70° và cồn iod (Povidine);
- Dung dịch rửa tay nhanh;
- Dung dịch sát khuẩn mặt bàn, dụng cụ xét nghiệm.

**3. Phiếu xét nghiệm:** Phiếu thu thập máu dây rốn, các loại bút viết;

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Tư vấn sản phụ và các thủ tục trước khi sinh**

- Sản phụ đã được tư vấn về vấn đề lưu trữ máu dây rốn sau khi sinh theo mẫu phiếu tư vấn cho sản phụ về tế bào gốc máu dây rốn;
- Sản phụ điền thông tin và ký vào các biểu mẫu theo hướng dẫn.

### **2. Thu thập máu dây rốn**

Tùy theo diễn biến của cuộc đẻ và ý kiến của bác sĩ đỡ đẻ, tiến hành thu thập máu dây rốn trước hoặc sau sổ rau thai.

#### **2.1. Thu thập máu dây rốn trước sổ rau thai**

- Chuẩn bị bộ dụng cụ thu thập, túi thu thập, gạc tẩm Povidine;
- Sau khi kẹp và cắt dây rốn như thao tác đỡ đẻ thông thường;
- Sát trùng bề mặt dây rốn bằng Povidine (từ dây rốn tới bánh rau thai);
- Hạ thấp đầu dây rốn và chọc kim của túi thu thập vào tĩnh mạch dây rốn;
- Lắc túi thu thập để máu trộn đều với dung dịch chống đông;
- Thu thập hết máu trong dây rốn;
- Kẹp dây túi thu thập và rút kim ra;
- Lắc nhẹ nhàng túi thu thập để trộn đều máu với dung dịch chống đông;

- Vuốt sạch máu trong đường dây của túi vào túi máu bằng kim vuốt, kẹp hoặc thắt dây nhằm tránh máu tràn ngược vào dây và chảy ra ngoài;
- Lấy máu tĩnh mạch của sản phụ cho vào ống nghiệm có chất chống đông;
- Điền đầy đủ thông tin yêu cầu vào phiếu thu thập.

## **2.2. Thu thập máu dây rốn sau mổ rau thai**

- Chuẩn bị xe thu thập, bộ dụng cụ thu thập, để khay một bên, khăn treo bánh rau một bên, gạc miếng để trên khăn treo và chia đôi: ½ gạc miếng được tẩm cồn 70° và ½ được tẩm Povidine;
- Ngay sau khi mổ rau thai, đặt bánh rau thai, dây rốn vào khay vô trùng và chuyển ngay về xe thu thập;
- Đặt bánh rau vào khăn có lỗ đặc biệt và treo bánh rau lên một giá cao sao cho dây rốn thông xuống dưới;
- Sát trùng bề mặt dây rốn bằng gạc tẩm cồn và povidine;
- Chọc kim của túi thu thập vào tĩnh mạch dây rốn;
- Lắc nhẹ túi thu thập để máu trộn đều với chất chống đông;
- Thu thập hết máu trong dây rốn;
- Kẹp dây túi thu thập và rút kim ra;
- Lắc nhẹ nhàng túi thu thập để trộn đều máu với dung dịch chống đông;
- Vuốt sạch máu trong đường dây của túi vào túi máu bằng kim vuốt, kẹp hoặc thắt dây nhằm tránh máu tràn ngược vào dây và chảy ra ngoài;
- Lấy máu tĩnh mạch của sản phụ vào ống nghiệm có chất chống đông;
- Điền đầy đủ thông tin yêu cầu vào phiếu thu thập.

## **3. Loại trừ một số trường hợp sau khi thu thập**

- Lượng máu dây rốn thu thập được quá thấp (< 60 gram đối với mẫu hiến hoặc < 30 gram đối với mẫu gửi dịch vụ);
- Sai phạm trong quá trình bảo quản, vận chuyển mẫu;
- Mẫu máu dây rốn nghi ngờ nhiễm trùng lúc thu thập.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Julie G. Allickson, PhD, MS, MT.** *Umbilical cord blood collection. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 24, p.278-290.*

## **THU NHẬN TẾ BÀO GỐC TỪ MÁU NGOẠI VI SAU HUY ĐỘNG** (Peripheral blood stem cell collection)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Các thành phần của máu toàn phần có tỷ trọng và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau. Quy trình sử dụng hệ thống máy gạn tách tự động để ly tâm phân tách các thành phần của máu, thu nhận lớp tế bào đơn nhân có chứa tế bào gốc và truyền trả người cho các thành phần còn lại. Các hệ thống máy tự động được sử dụng gạn tách tế bào gốc từ máu ngoại vi hiện có như: Cobe Spectra, Optia Spectra, Comtec Fresenius...

Nguồn gốc kỹ thuật: theo hướng dẫn của máy và quy trình của Hiệp hội Ngân hàng máu Mỹ (AABB).

### **II. CHỈ ĐỊNH**

- Đạt tiêu chuẩn về hiến tế bào gốc;
- Tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch cho phép thực hiện thủ thuật.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

- Không đạt các tiêu chuẩn về hiến thành phần máu;
- Tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch không cho phép thực hiện thủ thuật.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Cán bộ được đào tạo về gạn tách tế bào máu: 1 bác sĩ và 1 KTV;

#### **2. Phương tiện - Hóa chất:**

##### **2.1 Phương tiện:**

- Máy gạn tách thành phần máu tự động và bộ thu nhận (kít) phù hợp;
- Dụng cụ sát trùng: Bông thấm, cồn 70°, cồn iod, kim, băng dính;
- Bơm tiêm 5ml, ống xét nghiệm có chứa chất chống đông;
- Máy đo huyết áp đồng hồ, dây ga rô, quả bóp...

##### **2.2. Hóa chất:**

- Dung dịch chống đông ACD hoặc CPD-A;

### **3. Người hiến:**

- Người hiến: đảm bảo đủ tiêu chuẩn hiến tế bào gốc và được giải thích về quy trình.

### **4. Hồ sơ bệnh án:**

- Hồ sơ, các phiếu xét nghiệm, phiếu theo dõi quá trình gạn tách.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Bật máy và chọn chương trình**

### **2. Lắp đặt bộ thu nhận tế bào**

- Lắp đặt bộ thu nhận: các bước theo hướng dẫn của máy;
- Kết nối kit với dung dịch chống đông (và NaCl 0,9%).

### **3. Nhập chỉ số của người hiến theo yêu cầu**

- Giới tính; cân nặng (kg); chiều cao (cm);
- Hematocrit (%); số lượng bạch cầu (G/l); số lượng CD34 của người hiến;
- Chọn kết quả dự kiến sẽ gạn tách.

### **4. Tráng dung dịch chống đông và đuổi khí trong bộ kit:**

### **5. Kết nối kit với người hiến**

- Ga rô và chọn vị trí chọc tĩnh mạch;
- Sát trùng, lấy tĩnh mạch và cố định kim.

### **6. Lấy mẫu máu xét nghiệm**

- Mở khoá để máu vào khoảng 2ml và đóng khoá;
- Lấy máu xét nghiệm qua túi xét nghiệm vào ống xét nghiệm;
- Bấm nút để bắt đầu chương trình gạn tách.

### **7. Máy thực hiện gạn tách tế bào máu:**

- Máy thực hiện gạn tách theo chương trình lựa chọn (tùy theo máy);
- Điều chỉnh các chỉ số để thu nhận sản phẩm tốt nhất: lượng máu vào, dòng huyết tương, lượng thu nhận, thể tích, số chu kỳ, thời gian xử lý...
- Kết thúc gạn tách tế bào gốc máu ngoại vi khi đạt yêu cầu;
- Trả máu còn lại trong bộ kit về cho người hiến.

### **8. Kết thúc chương trình chạy máy:**

- Dừng máy, khóa các van vào, ra và các túi chứa sản phẩm;
- Rút kim ra khỏi người hiến và cầm máu vị trí chọc tĩnh mạch;
- Tháo kit ra khỏi máy và hàn dây tách túi sản phẩm ra khỏi bộ kit;

- Ghi chép kết quả chương trình gạn tách và thủ tục hành chính.

### **9. Lấy mẫu kiểm tra chất lượng khối tế bào máu thu nhận:**

- Lắc đều túi tế bào máu sau gạn tách;
- Lấy mẫu sản phẩm kiểm tra chất lượng qua túi đựng.

### **10. Kết thúc và bàn giao:**

- Ghi lại kết quả vào bệnh án/phiếu theo dõi gạn tách;
- Bàn giao khối tế bào gạn tách, mẫu xét nghiệm.

## **VI. THEO DÕI**

- Theo dõi diễn biến các thông số của người được gạn tách;
- Theo dõi diễn biến trong quá trình vận hành của máy;
- Theo dõi kết quả gạn tách tế bào máu;
- Ghi hồ sơ bệnh án/phiếu theo dõi theo mẫu.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Phản ứng bất thường của người hiến:**

Các trường hợp phản ứng hầu hết do quá nhạy cảm, có yếu tố tâm lý: Sự chuẩn bị tư tưởng không tốt, sự lo lắng của đối tượng...

#### **1.1. Các biểu hiện phản ứng bất thường:**

- Nhẹ: có những biểu hiện xay xầm nhưng không mất đi sự nhận biết;
- Vừa: có sự tăng nhanh của phản ứng nhẹ và dẫn đến sự mất nhận biết;
- Nặng: có các biểu hiện trên kèm theo sự co giật (ít gặp).

#### **1.2. Xử trí các trường hợp phản ứng:**

- Không tiếp tục thực hiện gạn tách;
- Nhấc cao chân và hạ thấp đầu của người bệnh/người hiến máu;
- Nói lỏng hoặc cởi những áo quá chật, tạo không khí thoáng;
- Trường hợp đối tượng bị nôn: Nằm nghiêng, có đồ chứa chất nôn;
- Kiểm tra biểu hiện ngoài và mạch thường xuyên;
- Nếu tình trạng tốt lên cho đối tượng uống nước mát, nghỉ ngơi đầy đủ;
- Đảm bảo đối tượng hồi phục hoàn toàn trước khi rời nơi gạn tách;
- Trường hợp cơn co giật kéo dài >5 phút, có thể tiêm Diazepam tĩnh mạch.
- Ghi lại phản ứng vào bệnh án/hồ sơ hiến máu.

### **2. Hạ can xi huyết:**

- Trường hợp nhẹ: dị cảm môi, mặt. Xử trí: giảm tốc độ lấy máu ra và trả về của máy, có thể ngâm viên can xi;

- Trường hợp nặng: cơ rút cơ nhiều, đau, khó thở... Tạm ngừng chương trình và tiêm can xi tĩnh mạch; Khi người hiến hết triệu chứng có thể chạy tiếp.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Fresenius HemoCare.** The new Cell Separator: COM.TEC. *Fresenius Transfusion GmbH*, 2011.
2. **Gambro BCT Inc.** Essentials guide. *Cobe Spectra apheresis system manual*. March 2005.
3. **Lefrere F, et al.,** Evaluation of an algorithm based on peripheral blood hematopoietic progenitor cell and CD34+ cell concentrations to optimize peripheral blood progenitor cell collection by apheresis. *Transfusion*.47. (2007) p1851-1857
4. **Michael L.Linenberger.** Collection of cellular therapy products by apheresis. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*, Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 23, p.251-277.
5. **Terumo BCT Inc.** Mononuclear cell collection. *Spectra optia apheresis system manual*, 2012.

## **THU NHẬN TẾ BÀO LYMPHO TỪ NGƯỜI HIẾN**

(Donors Lymphocyte collection)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Các thành phần của máu toàn phần có tỷ trọng và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau. Quy trình sử dụng hệ thống máy gạn tách tự động lấy máu từ người hiến, ly tâm phân tách máu toàn phần thành các lớp, thu nhận lớp có chứa tế bào lympho và truyền trả các thành phần còn lại cho người hiến. Các hệ thống máy được sử dụng gạn tách tế bào lympho từ máu ngoại vi hiến có như: Cobe Spectra, Comtec Fresenius...

Nguồn gốc kỹ thuật: theo hướng dẫn của máy và quy trình của Hiệp hội Ngân hàng máu Mỹ (AABB).

### **II. CHỈ ĐỊNH**

- Đạt tiêu chuẩn về hiến thành phần máu;
- Tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch cho phép thực hiện thủ thuật.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

- Không đạt các tiêu chuẩn về hiến thành phần máu;
- Tình trạng lâm sàng và tĩnh mạch không cho phép thực hiện thủ thuật.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

Cán bộ được đào tạo về gạn tách tế bào máu: 1 bác sĩ và 1 KTV;

#### **2. Phương tiện - Hóa chất:**

##### **2.1. Dụng cụ:**

- Máy gạn tách thành phần máu tự động và bộ kit thu nhận phù hợp;
- Dụng cụ sát trùng: Bông cồn iod, panh, băng dính, bơm tiêm 5ml;
- Máy đo huyết áp đồng hồ/dây ga rô, quả bóp...
- Găng tay vô trùng;
- Bút marker, bút viết, barcode;

## **2.2. Hóa chất:**

Chất chống đông ACD-A;

## **3. Chuẩn bị người hiến:**

- Tiếp nhận và giải thích quy trình;
- Chọn tĩnh mạch và chuẩn bị tư thế người hiến;

## **4. Hồ sơ:**

- Hồ sơ người hiến, các phiếu xét nghiệm;
- Phiếu theo dõi chương trình gạn tách tế bào Lympho.

# **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

## **1. Bật máy và chọn chương trình “Lymphocytes”**

## **2. Lắp đặt bộ thu nhận tế bào**

- Lắp đặt bộ kit thu nhận: Theo hướng dẫn và sơ đồ của máy;
- Kết nối túi ACD (và NaCl 0,9%);

## **3. Nhập chỉ số của người hiến theo yêu cầu**

- Giới tính; Cân nặng (kg); Chiều cao (cm);
- Hematocrit (%); Số lượng bạch cầu (G/l)
- Chọn kết quả dự kiến sẽ gạn tách

## **4. Tráng dung dịch ACD và đuổi khí trong bộ kit**

## **5. Kết nối kit với người hiến**

- Ga rô và chọn vị trí chọc tĩnh mạch;
- Sát trùng, lấy tĩnh mạch và cố định kim.

## **6. Lấy mẫu máu xét nghiệm**

- Mở khoá để máu vào khoảng 2ml và đóng khoá;
- Lấy máu xét nghiệm qua túi xét nghiệm vào ống xét nghiệm;
- Bấm nút để bắt đầu chương trình gạn tách.

## **7. Máy thực hiện gạn tách tế bào máu:**

- Máy thực hiện gạn tách theo chương trình lựa chọn (tùy theo máy);
- Điều chỉnh số chu kỳ để thu lượng tế bào lympho theo mong muốn;
- Kết thúc gạn tách tế bào lympho ngoại vi khi đạt kết quả;
- Trả máu còn lại trong bộ kit về cho người hiến.

## **8. Kết thúc chương trình chạy máy:**

- Dừng máy, khóa các van vào, ra và các túi chứa sản phẩm;
- Rút kim ra khỏi người hiến và cầm máu vị trí chọc tĩnh mạch;
- Tháo kit ra khỏi máy;



- Hàn dây và tách túi sản phẩm ra khỏi bộ kit;
- Ghi chép kết quả chương trình gạn tách và thủ tục hành chính.

### **9. Lấy mẫu kiểm tra chất lượng khối tế bào máu thu nhận**

- Lắc đều túi tế bào máu gạn tách;
- Lấy mẫu kiểm tra chất lượng qua túi sản phẩm: số lượng tế bào có nhân; số lượng tế bào lympho (đếm CD3, CD4, CD7, CD8...).

### **10. Kết thúc quy trình:**

- Ghi lại kết quả vào bệnh án/phiếu theo dõi gạn tách;
- Bàn giao khối tế bào gạn tách, mẫu xét nghiệm.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- 1. Bộ Y tế.** Thông tư Hướng dẫn hoạt động Truyền máu, năm 2013.
- 2. Bruce C. McLeod.** Apheresis: Principles and Practice. *AABB Press*. 2007
- 3. Fresenius HemoCare.** The new Cell Separator: Contec. *Fresenius Transfusion GmbH*, 2011.
- 4. Gambro BCT Inc.** Essentials guide. *Cobe Spectra apheresis system manual*. March 2005.
- 5. Terumo BCT Inc.** Mononuclear cell collection. *Spectra optia apheresis system manual*, 2012.

## **THU NHẬN TẾ BÀO GỐC TỪ TỦY XƯƠNG**

(Bone marrow stem cell collection)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Sử dụng kim chọc tủy xương chuyên dụng chọc hút dịch từ tủy xương có chứa nhiều tế bào gốc tạo máu, tế bào trung mô, tế bào đầu dòng nội mạc, nguyên bào sợi...

Nguồn gốc kỹ thuật: theo quy trình kỹ thuật của Hiệp hội Ngân hàng máu Mỹ (AABB).

### **II. CHỈ ĐỊNH**

- Người hiến tế bào gốc tạo máu tủy xương: sau khi đã kiểm tra đầy đủ các thông số xét nghiệm máu cũng như các xét nghiệm cận lâm sàng khác;
- Người bệnh có chỉ định điều trị bằng phương pháp ghép tế bào gốc tạo máu tự thân.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

- Người có thể trạng yếu, mắc bệnh phối hợp nặng, dị ứng thuốc gây mê...
- Người có bệnh lý ác tính có di căn tủy xương;
- Người có bệnh lý về rối loạn đông máu.

### **IV. CHUẨN BỊ**

- 1. Phòng lấy tủy xương:** đảm bảo vô trùng cho phẫu thuật;
- 2. Trang thiết bị và thuốc:** cho quá trình vô cảm người bệnh;
- 3. Người thực hiện:** Bác sĩ đa khoa, chuyên khoa huyết học đã được đào tạo;
- 4. Người hiến tủy xương:**
  - Người hiến và gia đình: được giải thích đầy đủ về thủ thuật;
  - Người hiến nhịn ăn trước 6 giờ;
  - Người hiến được tiền mê và gây tê tủy sống hoặc gây mê toàn thân;
  - Hồ sơ: ghi đầy đủ, chi tiết các lần thăm khám, hội chẩn, giải thích.
- 5. Phương tiện – Hóa chất**

- Săng lỗ vô khuẩn; Găng tay vô khuẩn;
- Băng, gạc, bông vô khuẩn;
- Miếng xốp cầm máu (gelatin);
- Bông cotton 70° và cotton iod;
- Bơm tiêm: 20 bơm tiêm 10 ml;
- Kim chọc hút tủy chuyên dụng (có lỗ ở bên);
- Cốc đựng dung dịch chống đông;
- Dung dịch chống đông: 50 đơn vị Heparine/1ml NaCl 0,9%;
- Dụng cụ chứa dịch tủy (túi chuyên dụng hoặc cốc inox hoặc ống Falcon).

Falcon).

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. Người bệnh nằm sấp và được gây mê hoặc gây tê tủy sống;
2. Sát trùng rộng vùng chọc và phủ săng có lỗ;
3. Vị trí chọc tủy: gai chậu sau trên hoặc mào chậu hai bên, các vị trí chọc cách nhau 3-5mm;
4. Chọc kim vào khoang tủy: dùng kim chọc tủy chuyên dụng chọc từ nhiều ổ, xiên hình nan quạt so với mặt da, mỗi một hướng kim chọc 3 lần ở các mức độ sâu, nông và xoay lỗ bên kim theo hướng khác nhau;
5. Hút dịch tủy: Dùng bơm tiêm 10ml đã có 1ml dung dịch chống đông lắp vào kim chọc tủy để hút đạt 5ml dịch (4ml dịch tủy + 1ml chống đông);
6. Chuyển bơm tiêm đã hút dịch tủy xương cho người phụ để cho vào dụng cụ chứa dịch tủy;
7. Tiếp tục chọc và hút dịch tủy xương đến khi đạt yêu cầu;
8. Kết thúc chọc hút dịch tủy: Khi đạt yêu cầu hoặc có bất thường không cho phép thực hiện thủ thuật;
  - Cầm máu vị trí chọc hút: ấn gạc lên vị trí chọc hút từ 10 phút, kiểm tra đến khi hết chảy máu thì đặt xốp cầm máu và băng ép vị trí chọc;
  - Chuyển dịch tủy xương thu được cho bộ phận tiếp theo để xử lý.

## **VI. THEO DÕI**

- Mạch, nhịp thở, nhiệt độ;
- Theo dõi các biến chứng sau gây tê tủy sống hoặc gây mê;
- Tình trạng vùng lấy tủy xương: sưng nề, chảy máu...
- Kháng sinh, giảm đau trong 3 ngày đầu;
- Sau 1 ngày vận động bình thường.

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Tụ máu vùng lấy tủy: Rạch lấy máu tụ, băng ép.
- Nhiễm trùng vùng lấy tủy: Nạo viêm, làm sạch và điều trị kháng sinh.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Thomas R. Spiter, MD.** *Bone Marrow collection. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*, Bethesda, MD: AABB, 2009, chapter 22, p.236-250.

### PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC BẰNG TÚI LẤY MÁU

(Stem cell isolation by blood collection bags)

## I. NGUYÊN LÝ

Các thành phần trong dịch tủy xương, khối tế bào gốc từ máu ngoại vi, máu dây rốn có tỷ trọng và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau. Quy trình sử dụng kỹ thuật ly tâm và ép tách túi dẻo để loại bỏ các thành phần hồng cầu, tiểu cầu, huyết tương, xương vụn... để thu được khối tế bào gốc tinh sạch.

Nguồn gốc: theo quy trình kỹ thuật của Hiệp hội Ngân hàng máu Mỹ (AABB).

## II. CHỈ ĐỊNH

- Khối tế bào gốc gạn tách từ máu ngoại vi;
- Máu dây rốn;
- Dịch tủy xương.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định:

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện:

Người thực hiện: được đào tạo kỹ thuật phân lập tế bào gốc.

### 2. Phương tiện:

- Tủ vô trùng có đèn cồn;
- Máy ly tâm lạnh có bucket văng cho túi máu;
- Bàn ép túi máu, kìm vuốt, kìm kẹp dây, kéo cắt, máy hàn dây túi máu;
- Túi dẻo lấy máu loại túi 4;
- Gạc, bông thấm vô trùng;
- Bông tẩm cồn sát trùng 70°, cồn iod;

### 3. Mẫu nguyên liệu:

Dịch tủy xương/ máu dây rốn/ túi tế bào gốc gạn tách từ máu ngoại vi.

**4. Hồ sơ:** Hồ sơ xử lý cô đặc và tinh sạch tế bào gốc (1 bộ).

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. Thời gian thực hiện: trước 24 giờ kể từ khi thu thập;
2. Người thực hiện: kỹ thuật đi găng tay, đội mũ, đeo khẩu trang;
3. Khử trùng tay, găng tay bằng cồn 70°;
4. Lấy mẫu trước xử lý: 1 ml để làm xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu, đếm tế bào CD34, tỷ lệ tế bào sống chết trước xử lý.
5. Nếu là dịch hút tủy xương:
  - + Lọc dịch qua lưới lọc để loại bỏ cục máu đông, mảnh xương, tế bào mỡ trong dịch tủy,
  - + Sau đó pha loãng dịch tủy gấp 2 lần với dung dịch NaCl 0,9%.
6. Bơm dịch hút tủy xương sau lọc, máu dây rốn, khối tế bào gốc tách từ máu ngoại vi (150 - 300ml) vào túi lấy máu loại 4 túi;
7. Ly tâm lần 1: Ly tâm ngược túi, tốc độ 3.870g x 10phút, nhiệt độ phòng;
8. Dùng bàn ép đẩy khối hồng cầu sang túi phụ cho tới khi lớp phân tách giữa huyết tương và khối hồng cầu cách đáy túi 15mm;
9. Cắt bỏ túi đựng khối hồng cầu;
10. Ly tâm lần 2: Ly tâm thẳng túi, tốc độ 1.200g x 7phút, nhiệt độ phòng;
11. Dùng bàn ép đẩy khối huyết tương sang túi phụ cho tới khi bề mặt huyết tương cách lớp buffy-coat khoảng 4cm;
12. Cắt và thu túi đựng khối tế bào gốc cô đặc;
13. Lấy mẫu sau xử lý: Lấy 1 ml để xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu, đếm tế bào CD34, tỷ lệ tế bào sống sau xử lý;
14. Kết thúc quy trình:
  - Chuyển túi sản phẩm để trộn dung dịch bảo quản;
  - Bàn giao mẫu xét nghiệm cho các bộ phận liên quan.
  - Hoàn thiện và lưu hồ sơ quá trình xử lý.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Melissa Croskell, Kathy Loper, and David H.McKenna.** *Basic cellular therapy manufacturing procedures. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*, Bethesda, MD: AABB, 2009, chapter 26, p.303-329.

## **PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC TỪ MÁU DÂY RÖN BẰNG PHƯƠNG PHÁP LY TÂM CÖ SỬ DỤNG HES**

(Umbilical cord blood stem cell isolation by centrifuge method using HES solution)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Các phân tử của dung dịch HES (Hydroxy Ethyl Starch) liên kết với hồng cầu làm tăng tỷ trọng, khi ly tâm phức hợp này nhanh lắng xuống trước, để lại lớp có nhiều tế bào có nhân.

Nguồn gốc kỹ thuật: theo quy trình kỹ thuật của Hiệp hội Ngân hàng máu Mỹ (AABB).

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Các mẫu máu dây rốn sau thu thập đạt tiêu chuẩn xử lý.

### **III. CHÖNG CHỈ ĐỊNH**

Các mẫu không đạt tiêu chuẩn.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện: được đào tạo kỹ thuật phân lập tế bào gốc.

#### **2. Phương tiện – Hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện:**

- Tủ an toàn sinh học;
- Tủ lạnh 4°C;
- Máy ly tâm lạnh;
- Bàn ép túi máu; máy hàn dây; kìm vuốt dây túi máu;
- Máy lắc túi máu;
- Cân điện tử;
- Máy phân tích huyết học > 18 thông số;
- Bộ túi xử lý máu dây rốn;
- Hộp đựng bông tiệt trùng;
- Kìm kẹp dây túi máu;

- Đồng hồ bấm giây;
- Bơm và kim tiêm các loại;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm;
- Tất cả các dụng cụ phải được hấp tiệt trùng.

## **2.2. Hoá chất**

- Dung dịch HES 6%;
- Cồn 70°;
- Chai cây vi trùng vi nấm;
- Hóa chất tiệt trùng bàn xét nghiệm, dụng cụ.

Tất cả các môi trường hoá chất đều đã được tiệt trùng.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Túi máu dây rốn (MDR) được sát trùng bằng cồn 70° chuyển vào phòng xử lý. Quá trình xử lý tiến hành trong phòng sạch cấp độ B.

### **1. Chuẩn bị mẫu để ly tâm lần 1:**

- Cân túi MDR lần 1 trừ bì (gồm túi và chất chống đông);
- Dán barcode và ghi các thông tin vào hồ sơ xử lý;
- Hàn dây túi thu thập MDR, bỏ đi các đoạn dây không cần thiết;
- Đặt túi MDR lên máy lắc đều 5 phút;
- Sát trùng bên ngoài túi MDR chuyển vào tủ an toàn sinh học;
- Gắn kim lấy mẫu vào miệng túi máu;
- Lấy mẫu xét nghiệm: Tổng phân tích tế bào máu, cấy vi khuẩn, vi nấm;
- Cân lại túi máu và tính lượng HES cần dùng;
- Bơm HES với tốc độ 0,5ml/giây
- Lắc trộn đều trong vòng 10phút;

### **2. Ly tâm lần 1:**

- Chuyển túi MDR vào cốc ly tâm, tính toán đối trọng cho mẫu ly tâm;
- Ly tâm lần 1: lực ly tâm 150G trong 5 phút, ở nhiệt độ 10°C.

### **3. Chuẩn bị mẫu ly tâm lần 2:**

- Đưa bàn ép túi máu, cân điện tử, bộ túi xử lý vào tủ an toàn sinh học;
- Đặt túi MDR sau ly tâm vào bàn máy ép, gắn đầu kim túi xử lý vào túi MDR, đặt túi chuyển 1 lên cân điện tử. Ép túi MDR chuyển phần huyết tương và phần buffy-coat vào trong túi chuyển 1 cho đến khi lớp hồng cầu vừa tới miệng túi chuyển 1 thì bắt đầu tính lượng hồng cầu lấy thêm. Lượng hồng cầu lấy thêm được tính như sau:

| <b>Lượng HES thêm vào</b> | <b>Lượng RBC cần chuyển</b> |
|---------------------------|-----------------------------|
| < 20 ml                   | 17 gram                     |
| 20 – 29 ml                | 18 gram                     |
| 30 – 39 ml                | 19 gram                     |
| > 40 ml                   | 20 gram                     |

- Khi thêm đủ lượng hồng cầu vào thì khoá van, mở bàn ép và trả phần hồng cầu ở đoạn dây vào túi MDR, hàn và tách rời túi MDR khỏi túi xử lý;

- Tính trọng lượng của MDR trong túi chuyển 1 (P1): Trọng lượng túi xử lý trừ bì.

#### **4. Ly tâm lần thứ 2:**

- Xếp bộ túi xử lý vào cốc ly tâm và cân bằng đối trọng;

- Ly tâm lần thứ 2: lực ly tâm 400G trong 10 phút, ở nhiệt độ 10°C.

#### **5. Chuẩn bị mẫu để lưu trữ:**

- Chuẩn bị 7ml dung dịch bảo quản: dung dịch DMSO + dung dịch Dextran T40 với tỷ lệ 1:1 vào ống kim tiêm 20 ml để vào tủ lạnh ở 4°C;

- Đặt túi chuyển 1 sau ly tâm vào bàn ép, đặt túi huyết tương lên cân điện tử, ép túi chuyển 1 để đưa huyết tương tới miệng túi huyết tương, bắt đầu tính lượng huyết tương lấy ra: P1 trừ đi hằng số cố định 24.9g;

- Sau khi lấy đủ lượng huyết tương, dùng kim vuốt phần huyết tương còn ở đoạn dây trả lại vào túi chuyển 1; hàn cắt rời túi chuyển 1;

- Cân sản phẩm: trọng lượng túi chuyển 1 trừ bì (trọng lượng túi xử lý);

- Trộn đều túi sản phẩm và lấy 1ml sản phẩm để xét nghiệm CD34 và tổng phân tích tế bào máu.

#### **6. Kết thúc quy trình:**

- Bàn giao sản phẩm, mẫu lưu và mẫu xét nghiệm đánh giá;

- Hoàn thiện và lưu hồ sơ.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- 1. Melissa Croskell, Kathy Loper, David H.McKenna.** *HES sedimentation for Manual Red Cell Removal, in Basic Cellular therapy manufacturing procedures, Method 26-2; Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 26, p.312-314.*



## **PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC**

### **BẢNG ỚNG LY TÂM 50ml, KHÔNG DÙNG HÓA CHẤT**

(Stem cell isolation by falcon 50ml centrifuge tube without additional reagents)

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Các thành phần trong dịch tủy xương, khối tế bào gốc từ máu ngoại vi, máu dây rốn có tỷ trọng và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau, qua đó loại bỏ phần lớn hồng cầu, tiểu cầu, huyết tương ra khỏi mẫu để thu được sản phẩm có chứa nhiều tế bào gốc.

Nguồn gốc kỹ thuật: Áp dụng từ quy trình tách khối buffy-coat kinh điển dùng trong miễn dịch và huyết học.

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

Phân lập tế bào gốc từ:

- Khối tế bào gốc gạn tách từ máu ngoại vi;
- Máu dây rốn;
- Dịch hút tủy xương.

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện:**

Người đã được đào tạo thực hiện kỹ thuật.

##### **2. Phương tiện:**

- Tủ an toàn sinh học có đèn cồn;
- Máy ly tâm lạnh có công văng cho ống ly tâm 50ml;
- Ống ly tâm 50ml (ống Falcon);
- Pipet điện hút chân không;
- Pipet paster thủy tinh và quả bóp; pipet thủy tinh/nhựa loại 10 - 20ml;
- Các ống đong thủy tinh 100 ml, 250 ml; cốc thủy tinh;
- Lưới thép mịn;
- Bơm tiêm 15 ml, 20 ml; kim 18G;
- Bông gạc vô trùng; bông cồn ethanol 70° và cồn iod.

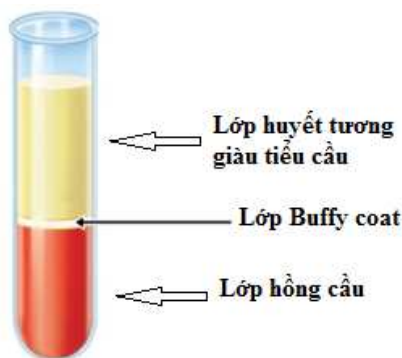
Tất cả các thiết bị, dụng cụ đều được tiệt trùng.

##### **3. Mẫu nguyên liệu**

Dịch hút tủy xương, máu dây rốn, túi tế bào gốc tách từ máu ngoại vi.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Thời gian thực hiện: càng sớm càng tốt, ngay khi mẫu tế bào gốc được đưa đến phòng labo;
2. Người thực hiện: kỹ thuật đi găng tay, đội mũ, đeo khẩu trang;
3. Khử trùng tay, găng tay bằng cồn ethanol 70°;
4. Lấy 1 ml mẫu trước xử lý để xét nghiệm: tổng phân tích tế bào máu, tế bào CD34, tỷ lệ tế bào sống chết trước xử lý;
5. Nếu là dịch hút tủy xương:
  - + Lọc dịch qua lưới lọc để loại bỏ cục máu đông, mảnh xương trong các ống dịch tủy;
  - + Sau đó pha loãng dịch tủy xương 2 lần bằng dung dịch NaCl 0,9%.
6. Ly tâm chuẩn 4.700 vòng trong 10 phút, tách thành 3 lớp: huyết tương – buffy coat – hồng cầu;



7. Dùng pipete thủy tinh vô khuẩn hút bỏ tối đa lớp hồng cầu và lớp huyết tương giàu tiểu cầu. Tránh làm mất lớp buffy-coat;
8. Lắc đều và dồn dịch tủy từ 2-3 ống vào 1 ống;
9. Lặp lại bước 6 và 7 cho tới khi loại bỏ được tối đa hồng cầu và huyết tương giàu tiểu cầu;
10. Vortex lắc trộn khối Buffy-coat cô đặc, có thể rửa bằng nước muối sinh lý và đưa về thể tích yêu cầu;
11. Lấy 1 ml mẫu sau xử lý để xét nghiệm đánh giá kết quả;
12. Kết thúc quy trình:
  - Ghi thể tích mẫu trước xử lý, thể tích sau xử lý;
  - Thực hiện xét nghiệm đánh giá: số lượng tế bào máu, tế bào CD34, tỷ lệ tế bào sống sau xử lý;
  - Hoàn thiện và lưu hồ sơ.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Shinisuke Sakai, Hajime Mishima, Tomoo Ishii, et al.** (2008). Concentration of bone marrow aspirate for osteogenic repair using simple centrifugal methods. *Acta Orthopaedica*; 79 (3): 445–448

# CÔ ĐẶC VÀ TINH SẠCH TẾ BÀO GỐC BẰNG ỐNG RES-Q60

(Stem cell concentration and purification by RES-Q60 tube)

## I. NGUYÊN LÝ

Các thành phần trong dịch tủy xương có tỷ trọng và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau. Quy trình sử dụng ống RES-Q60 với máy ly tâm chuyên dụng để loại bỏ phần lớn hồng cầu, tiểu cầu, bạch cầu hạt, huyết tương khỏi dịch hút tủy xương và thu nhận khối tế bào gốc cô đặc và tinh sạch.

Nguồn gốc: áp dụng theo quy trình của hãng Themogenesis.

## II. CHỈ ĐỊNH

Cô đặc và tinh sạch tế bào gốc từ dịch tủy xương.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Khối tế bào gốc gạn tách từ máu ngoại vi;
- Máu dây rốn.

## IV. CHUẨN BỊ

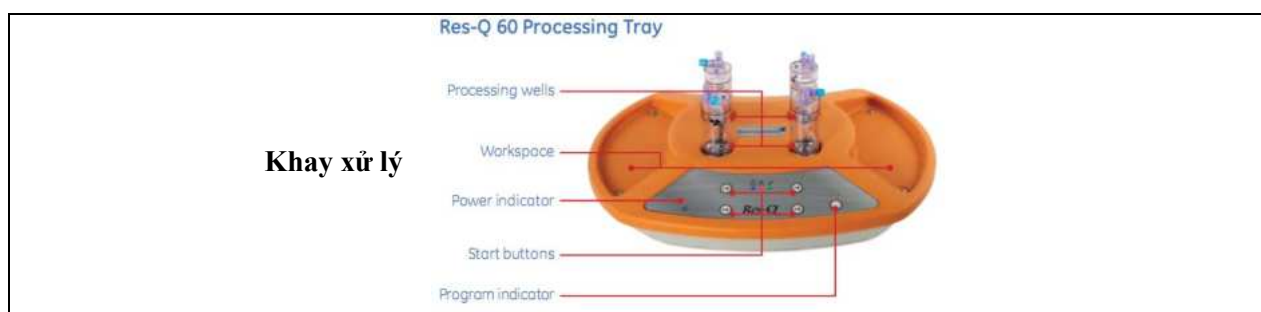
### 1. Người thực hiện:

Bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo để thực hiện kỹ:

### 2. Phương tiện:

- Máy ly tâm chuyên dụng cho ống RES-Q60;
- Khay xử lý chuyên dùng cho ống RES-Q60;
- Bộ kit RES-Q60: ống RES-Q60, bộ lọc, bơm tiêm 10ml, đoạn dây truyền.





### 3. Mẫu nguyên liệu:

Dịch tủy xương hoặc máu dây rốn.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Thời gian thực hiện: ngay khi mẫu được đưa đến phòng labo;
2. Người thực hiện: kỹ thuật đi găng tay, đội mũ, đeo khẩu trang;
3. Tính toán số ống RES-Q60 cần dùng (mỗi ống xử lý được 60ml);
4. Khử trùng tay, găng tay bằng cồn ethanol 70°;
5. Lấy mẫu xét nghiệm trước xử lý 1ml để làm xét nghiệm: Tổng phân tích tế bào máu, tế bào CD34, tỷ lệ tế bào sống chết;
6. Đặt ống RES-Q60 vào vị trí trên giá tách chuyên dụng;
7. Dùng bơm tiêm 20ml và đoạn dây truyền của kit hút khối dịch nguyên liệu cần cô đặc và tinh chế (khối dịch hút tủy xương hoặc máu dây rốn) bơm qua bộ lọc vào ống RES-Q60 qua van đỏ tới vạch 60ml;
8. Ly tâm ống RES-Q60 bằng máy chuyên dụng 3200 vòng/phút x 12 phút;
9. Lấy ống RES-Q60 khỏi máy ly tâm, để dựng đứng trên khay xử lý;
10. Dùng bơm tiêm 10ml vô khuẩn kèm theo kit để hút khoảng 6-10 ml lớp buffy coat giàu tế bào gốc;
11. Lấy mẫu xét nghiệm sau xử lý 1ml làm xét nghiệm: Tổng phân tích tế bào máu, tế bào CD34, tỷ lệ tế bào sống chết;
12. Kết thúc quy trình:
  - Bàn giao sản phẩm và mẫu xét nghiệm cho bộ phận tiếp theo;
  - Hoàn thiện và lưu hồ sơ thực hiện.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Thermogenesis Corporation.** Bone marrow concentration for laboratory and point of care. *Res-Q 60 BMC system guideline*, 2012.

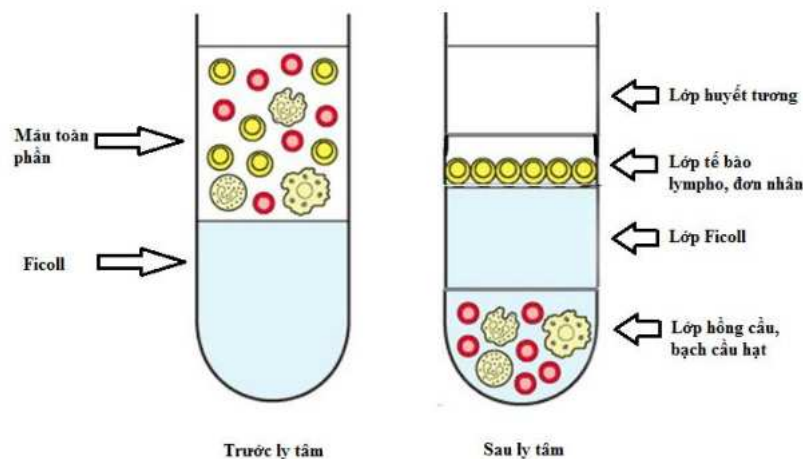
# PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC BẰNG PHƯƠNG PHÁP LY TÂM PHÂN LỚP THEO TỶ TRỌNG SỬ DỤNG FICOLL

(Stem cell isolation by density gradient method using Ficoll)

## I. NGUYÊN LÝ

Dựa vào tỷ trọng của Ficoll và tỷ trọng của tế bào máu: tỷ trọng của Ficoll là 1,077, cao hơn tỷ trọng của bạch cầu lympho nhưng lại thấp hơn tỷ trọng của hồng cầu và bạch cầu hạt. Khi ly tâm, hồng cầu và bạch cầu hạt lắng xuống đáy ống ly tâm, còn bạch cầu lympho và bạch cầu đơn nhân nằm ở trên lớp Ficoll. Thu hoạch lớp tế bào ở trên lớp Ficoll rất giàu tế bào gốc tạo máu.

Nguồn gốc: Theo quy trình của hãng Mass Miltenyi Biotec.



## II. CHỈ ĐỊNH

- Khối tế bào gốc tách từ máu ngoại vi;
- Máu dây rốn;
- Dịch hút tủy xương.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

Không có chống chỉ định.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện:

Kỹ thuật viên được đào tạo để thực hiện kỹ thuật.

### 2. Phương tiện - Hóa chất

#### 2.1. Phương tiện:

- Hốt vô trùng có đèn cồn;
- Máy ly tâm lạnh có bucket văng cho ống Falcon 50 ml;
- Pipet điện hút chân không;
- Các ống đông thủy tinh 100, 250 ml (đã hấp khử trùng);

- Các pipet paster thủy tinh (đã hấp khử trùng, 1 hộp);
- Cốc thủy tinh (đã hấp sấy khử trùng, 02 cái);
- Lưới thép mịn (đã hấp sấy khử trùng, 3 cái);
- Các pipet thủy tinh hoặc nhựa vô khuẩn loại 10 - 20 ml (2 cái mỗi loại);
- Máy ly tâm lạnh;
- Quả bóp cao su dùng cho pipet pasteau (đã hấp khử trùng, 02 cái);
- Ống tiêm 15 ml, 20 ml;
- Kim 18G;
- Bông cotton iod;

## **2.2. Hóa chất**

- Dung dịch Ficoll 1,077 vô trùng;

**3. Mẫu nguyên liệu:** dịch hút tủy xương, máu dây rốn, túi tế bào gốc tách từ máu ngoại vi.

**4. Hồ sơ:** Hồ sơ xử lý cô đặc và tinh sạch tế bào gốc (1 bộ).

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. Thời gian thực hiện: Càng sớm càng tốt, ngay khi mẫu được đưa đến labo;
2. Người thực hiện: kỹ thuật đi găng tay, đội mũ, đeo khẩu trang;
3. Tính số lượng ống Falcon 50 ml cần dùng (mỗi ống xử lý được 30ml máu/dịch hút tủy xương);
4. Khử trùng tay, găng tay bằng cồn ethanol 70°;
5. Lấy 1ml mẫu xét nghiệm trước xử lý để xét nghiệm: Tổng phân tích tế bào máu, tế bào CD34, tỷ lệ tế bào sống chết;
6. Pha loãng dịch xử lý đã chống đông với dung dịch PBS theo tỷ lệ 6:1 (30 ml máu dây rốn/dịch hút tủy xương + 5 ml PBS);
7. Nếu dùng dịch hút tủy xương:
  - + Lọc qua màng lọc 100 micromet để loại mảnh xương và xơ sợi;
  - + Pha loãng 2 lần bằng dung dịch NaCl 0,9%.
8. Cho 15 ml Ficoll-Paque vào ống Falcon 50 ml. Nhẹ nhàng đặt 35 ml dịch đã pha loãng lên trên lớp Ficoll-Paque;
9. Ly tâm với lực 445g trong 30 phút, ở nhiệt độ 20°C;
10. Hút bỏ lớp huyết tương, và hút lớp nhầy bạch cầu chuyển sang ống Falcon 50ml mới;

11. Rửa tế bào 2 lần bằng thêm 40 ml PBS, ly tâm 300g trong 10 phút, ở nhiệt độ 20°C; loại bỏ dịch nổi và giữ cặn tế bào;
12. Tái huyền dịch cặn tế bào trong 15-20 ml dung dịch nước muối sinh lý;
13. Lấy mẫu xét nghiệm sau xử lý 1ml để làm xét nghiệm: tổng phân tích tích tế bào máu, tế bào CD34, tỷ lệ tế bào sống chết;
14. Kết thúc quy trình:
  - Bàn giao sản phẩm và mẫu xét nghiệm;
  - Hoàn thiện và lưu hồ sơ thực hiện.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Miltenyl Biotec Inc.** Isolation of mononuclear cells from human cord blood by density gradient centrifugation. [www.miltenylbiotec.com](http://www.miltenylbiotec.com), 2008.
2. **Ivan Roitt (1998).** Density gradient separation of lymphocyte on Ficoll isopaque. In Immunology 5<sup>th</sup> Edition by Ivan Roitt, Pub by Moskey, 1998, p.391.



# **PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC BẰNG HỆ THỐNG MÁY TỰ ĐỘNG SEPAX**

(Stem cell isolation using Sepax full-automatic system)

## **I. NGUYÊN LÝ**

Các thành phần trong dịch tủy xương, khối tế bào gốc từ máu ngoại vi, máu dây rốn có tỷ trọng và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau. Hệ thống máy Sepax sẽ tự động hút mẫu vào buồng phân tách để ly tâm phân lớp và sử dụng hệ thống cảm quang để nhận biết, thu nhận lớp chứa các tế bào gốc.

Nguồn gốc kỹ thuật: theo hướng dẫn của máy và quy trình kỹ thuật của Hiệp hội ngân hàng máu Mỹ (AABB).

## **II. CHỈ ĐỊNH**

- Khối tế bào gốc tách từ máu ngoại vi;
- Máu dây rốn;
- Dịch tủy xương.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Được đào tạo để thực hiện kỹ thuật.

### **2. Phương tiện**

- Hệ thống máy xử lý chính của Sepax;
- Máy nối dây túi máu hoặc thiết bị kết nối vô trùng (nếu cần);
- Máy hàn dây túi máu;
- Các vật liệu phòng thí nghiệm cần thiết;
- 1 bộ kit đơn chuyên dụng;
- Túi đông lạnh đảm bảo thể tích;
- Bơm tiêm dùng một lần các loại và kim 18G, 20G;
- Ống đựng mẫu xét nghiệm;
- Bông, gạc vô trùng;
- Quần áo, mũ, khẩu trang, bao chân, găng tay vô trùng;

### **3. Mẫu nguyên liệu:**

### **4. Hồ sơ:** Hồ sơ xử lý (1 bộ).

Dịch tủy xương, máu dây rốn hoặc khối tế bào gốc tách từ máu ngoại vi.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### *Bước 1: Cài đặt các chỉ số:*

- Bật thiết bị và chọn chương trình.
- Cài đặt các chỉ số: thể tích ban đầu, thể tích sản phẩm, lượng dung dịch HES bổ sung.

### *Bước 2: Chuẩn bị kit*

- Kiểm tra: hạn dùng và sự nguyên vẹn của kit;
- Kết nối kit với túi thu nhận và túi đầu vào (nối vô trùng).

### *Bước 3: Lắp đặt kit*

- Lắp kit theo trình tự: buồng ly tâm, cảm biến quang và áp lực, van chữ T, treo túi huyết tương, túi hồng cầu và túi xử lý vào giá thích hợp;
- Đảm bảo các điều kiện: nắp buồng ly tâm được đóng kín, đường cảm biến áp lực được kết nối, van kết nối với túi sản phẩm đầu vào được khóa, các van được kết nối ở vị trí chữ T;
- Sau khi kết nối xong bấm nút start để hệ thống kiểm tra kit tự động.

### *Bước 4: Quy trình tự động của máy*

- Màn hình nhắc “Open roller clamp”: Mở kẹp con lăn ở ống nối với túi chứa mẫu đầu vào.
- Ấn ☒ sepax sẽ tự động thực hiện quy trình:
  - + Máy hút mẫu vào khoang phân tách và ly tâm tách lớp;
  - + Đẩy huyết tương ra túi chứa tương ứng, đẩy lớp buffy-coat ra túi sản phẩm, sau đó đẩy hồng cầu ngược lại vào túi chứa mẫu ban đầu.
  - + Kết thúc 1 chu kỳ phân tách, máy tạm dừng và bắt đầu bằng tiếng bíp;
  - + Chu kỳ phân tách tiếp theo lập lại.

### *Lưu ý:*

- Trộn đều túi đầu vào sau mỗi chu kỳ.
- Mỗi chu kỳ xử lý tối đa 220 ml; mỗi lần thực hiện từ 30 - 3.300 ml.

### *Bước 5: Kết thúc quy trình xử lý:*

- Thực hiện theo hướng dẫn hiển thị trên màn hình: ấn enter, mở đường bạch cầu, hồng cầu và huyết tương; đóng các khóa và tháo kit;
- Tách túi sản phẩm (hàn đường thu nhận ngay trên các khóa);
- Trộn đều sản phẩm và lấy mẫu xét nghiệm;
- Bàn giao sản phẩm và mẫu xét nghiệm;

- Hoàn thiện và lưu hồ sơ.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Biosafe.** Sepax cell processing system. *Operator's manual*. 2012.
2. **Lapierre et al.** Cord blood volume reduction using an automated system (Sepax) vs. a semi- automated system (Optipress II) and a manual method (hydroxyethyl starch sedimentation) for routine cord blood banking: a comparative study. *Cytotherapy*, 2007, 9(2): 165-169.
3. **Solves et al.** New automatic device for routine cord blood banking: Critical analysis of different volume reduction methodologies. *Cytotherapy*, 2009, 11(8): 1101-1107
4. **Philip H.Coelho, Kathy Loper.** Automated processing of Umbilical Cord Blood with Biosafe Sepax system and related accessories. *in umbilical cord blood processing, Method 27-1; Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 27, p.336-338.

# **PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC MÁU DÂY RÓN**

## **BẰNG HỆ THỐNG TỰ ĐỘNG AXP**

(Umbilical cord blood stem cell isolation using AXP system)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Các thành phần trong máu dây rốn có tỷ trọng và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau. Hệ thống máy AXP sử dụng rô bốt có cấu trúc khe rãnh nhằm phân lớp máu dây rốn khi ly tâm, thu nhận lớp có chứa tế bào gốc và loại bỏ phần lớn bạch cầu hạt, hồng cầu, tiểu cầu, plasma.

Nguồn gốc kỹ thuật: theo hướng dẫn sử dụng AXP và quy trình kỹ thuật của Hiệp hội ngân hàng máu Mỹ (AABB).

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Các mẫu máu dây rốn sau thu thập đảm bảo tiêu chuẩn xử lý.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Các mẫu không đạt tiêu chuẩn.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

Được đào tạo để thực hiện kỹ thuật.

#### **2. Phương tiện – Hóa chất:**

##### **2.1. Phương tiện:**

- Tủ an toàn sinh học;
- Hệ thống AXP kèm máy tính;
- Máy ly tâm chuyên dụng để phân tách máu;
- Máy lắc túi máu;
- Máy hàn dây;
- Máy hàn ép chân không;
- Bơm và kim tiêm;
- Thanh treo túi máu;
- Tủ lạnh 4°C;
- Cân điện tử;
- Bộ túi xử lý máu dây rốn;
- Hộp bảo vệ túi bao ngoài;
- Mã barcode;
- Hộp đựng gạc tiệt trùng;
- Đầu nối dây túi máu;

- Kim kẹp dây túi máu, kéo cắt;
- Pipetman và đầu côn; Pipet Pasteur;
- Bơm và kim tiêm;
- Ống nghiệm lưu mẫu các loại.

Tất cả các dụng cụ đã được chuẩn bị và hấp tiệt trùng.

## **2.2. Hóa chất**

- Cồn 70°;
- Nước muối sinh lý;
- Nước cất.

Tất cả các môi trường hóa chất đều đã được tiệt trùng và loại trừ độc tố.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Quá trình xử lý tiến hành trong phòng sạch cấp độ B.

### **1. Chuẩn bị mẫu để ly tâm**

- Túi máu sau khi tiếp nhận được sát trùng sạch sẽ bằng cồn 70° bên ngoài và mang túi máu cân trọng lượng: xử lý với mẫu từ 30gram đến 150gram;
- Kiểm tra kỹ các vị trí nối của bộ túi xử lý;
- Kẹp khoá ở hai đường ống dẫn túi lấy mẫu xét nghiệm;
- Chuyển van điều tiết tới vị trí 45°C giữa túi hồng cầu và túi xử lý, chuyển toàn bộ khí có trong túi đông lạnh ra ngoài qua đường bơm DMSO;
- Dán barcode cho túi đông lạnh;
- Nối túi máu thu thập với bộ xử lý máu, giai đoạn này được tiến hành trong tủ cấy an toàn sinh học;
- Chuyển toàn bộ mẫu máu trong túi thu thập sang túi xử lý. Hàn dây phía trên chỗ lấy mẫu máu và cắt bỏ phần túi thu thập dính liền với màng lọc;
- Trộn kỹ túi máu sau đó lấy mẫu để xét nghiệm;
- Hàn tách rời túi lấy mẫu xét nghiệm;
- Cân trọng lượng của mẫu máu: Bằng trọng lượng cân được trừ đi 55gr bì;
- Lắp đặt bộ túi xử lý vào rô bột theo thứ tự: Túi đông lạnh, xử lý, đường DMSO, túi lấy mẫu, túi hồng cầu. Đậy nắp và cho rô bột vào ống ly tâm;
- Chuẩn bị một cốc ly tâm nữa cân bằng với cốc ly tâm mẫu;
- Cho cốc ly tâm vào máy ly tâm và kiểm tra: Đèn pin trên AXP sáng, vị trí mũi tên trên nắp AXP hướng vào tâm, xoay cốc ly tâm quanh trục để chắc chắn rằng cốc ly tâm không bị vưóng;
- Đóng nắp máy ly tâm.

## **2. Giai đoạn ly tâm**

- Ly tâm lần thứ nhất: lực ly tâm 400G trong 20 phút ở nhiệt độ 22°C;
- Ly tâm lần thứ hai: lực ly tâm thấp 80G trong 10 phút ở nhiệt độ 22°C.

## **3. Giai đoạn lấy mẫu xét nghiệm**

Dùng bơm kim hút hết lượng máu trong túi ra để xét nghiệm: đếm tế bào máu, HLA, cấy vi khuẩn và vi nấm.

## **4. Giai đoạn lưu thông tin vào máy tính**

- Sau khi ly tâm lấy rô bột ra khỏi máy ly tâm, tháo rời bộ túi xử lý mẫu và đặt rô bột vào đế sạc để gửi dữ liệu vào phần mềm;
- Hàn dây bỏ túi hồng cầu;
- Mang bộ túi xử lý máu và túi hồng cầu vào tủ an toàn sinh học;
- Dùng bơm kim hút huyết tương trong túi xử lý cho vào ống lưu trữ;
- Dùng kim vuốt hết sản phẩm còn lại trên đường ống vào túi đông lạnh;
- Chuyển toàn bộ sản phẩm từ túi xử lý sang túi đông lạnh;
- Lấy mẫu xét nghiệm:
  - + Lấy mẫu sản phẩm sau xử lý đếm tế bào máu và tỷ lệ tế bào sống;
  - + Lấy mẫu xét nghiệm điện di và lưu trữ: dùng bơm tiêm và đầu nối để hút mẫu trong túi hồng cầu.

## **5. Kết thúc quy trình:**

- Bàn giao sản phẩm và mẫu xét nghiệm;
- Hoàn thiện và lưu hồ sơ.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- 1. Philip H.Coelho, Kathy Loper.** Automated Volume Reduction of Umbilical Cord Blood using the AutoXpress System. *in umbilical cord blood processing, Method 27-2; Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation.* Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 27, p.338-340.

**PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC**  
**TỪ DỊCH HÚT TỦY XƯƠNG BẰNG MÁY COMTEC**  
(Bone marrow stem cell isolation using COMTEC apheresis system)

## **I. NGUYÊN LÝ**

Các thành phần trong dịch hút tủy xương có tỷ trọng và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau. Máy Comtec sẽ ly tâm dịch tủy xương để thu nhận lớp có chứa tế bào gốc và loại bỏ phần lớn hồng cầu, tiểu cầu, plasma, mảnh xương vụn... khỏi dịch hút tủy xương.

Nguồn gốc kỹ thuật: Theo quy trình hướng dẫn của máy và AABB.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Dịch tủy xương sau khi thu thập.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Được đào tạo để thực hiện kỹ thuật.

### **2. Phương tiện – Hóa chất:**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Bộ kit phân lập tế bào gốc từ dịch tủy xương (P1Y + BMSC);
- Túi dung dịch chống đông ACD-A 600ml;
- Quần áo vô trùng, mũ, khẩu trang, ủng giấy;
- Bơm tiêm 3ml;
- Găng tay vô trùng;
- Kim tiêm 20G.

#### **2.2. Hóa chất:**

- NaCl 0.9%, Albumin;
- Cồn 70°, Iod 10%;
- Dung dịch lau bàn, dung dịch rửa tay nhanh.

### **3. Mẫu bệnh phẩm:**

Túi dịch tủy xương sau khi thu thập.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Bước 1: *Pha loãng dịch tủy xương*

Pha dịch tủy xương trong dung dịch albumin đạt nồng độ 1,5% để điều chỉnh hematocrit đạt khoảng 25-30%.

Bước 2: Cài đặt các thông số của máy

- Bật máy Comtec, chọn chương trình (BMSC);
- Lắp bộ kit P1Y theo hướng dẫn của chương trình;
- Chạy chương trình tráng kit (priming) bằng NaCl 0,9%;
- Cài đặt các thông số;
- Kết nối túi chứa dịch tủy xương vào bộ kit P1Y.

Bước 3: Chạy chương trình phân lập tế bào gốc

- Bấm start để chạy chương trình;
- Máy thực hiện phân lập theo chương trình;
- Điều chỉnh các chỉ số để thu nhận sản phẩm tốt nhất: lượng máu vào, lượng thu nhận, thể tích...
- Kết thúc quy trình phân lập: trả các thành phần loại bỏ về túi ban đầu.

Bước 4: Kết thúc chạy máy

- Dừng máy, khóa các van vào, ra và các túi chứa sản phẩm;
- Tháo kit ra khỏi máy và hàn dây tách túi sản phẩm ra khỏi bộ kit;
- Tách túi sản phẩm và lấy mẫu để xét nghiệm: tổng phân tích tế bào máu; đếm số lượng tế bào gốc; nuôi cấy cụm.

Bước 5: Hoàn thiện hồ sơ và thu dọn dụng cụ

- Hoàn thiện và dán nhãn sản phẩm;
- Ghi chép kết quả chương trình gạn tách và thủ tục hành chính.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Fresenius HemoCare.** The new Cell Separator: Comtec. *Fresenius Transfusion GmbH*, 2011.
2. **Michael L.Linenberger.** Collection of cellular therapy products by apheresis. Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 23, p.251-277.



# **PHÂN LẬP TẾ BÀO GỐC**

## **TỪ DỊCH HÚT TỦY XƯƠNG BẰNG MÁY HARVEST-TERUMO**

(Bone marrow stem cell isolation using HARVEST-TERUMO system)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Các thành phần trong dịch tủy xương có tỷ trọng và độ nhớt khác nhau nên khi ly tâm sẽ phân tách thành các lớp khác nhau. Máy Harvest-Terumo với cốc ly tâm có cấu trúc đặc biệt để khi ly tâm dịch hút tủy xương thì phần chứa các tế bào có nhân sẽ được phân tách sang bộ phận riêng biệt qua đó thu thập tế bào gốc và loại bỏ phần lớn hồng cầu, tiểu cầu, plasma, mảnh xương vụn...

Nguồn gốc kỹ thuật: Theo quy trình hướng dẫn của máy và AABB.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Dịch tủy xương sau khi thu thập,

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

Được đào tạo để thực hiện kỹ thuật.

#### **2. Phương tiện:**

- Máy ly tâm của Harvest-Terumo;
- Bộ kit của Harvest-Terumo với cốc ly tâm chuyên dụng;
- Quần áo vô trùng, mũ, khẩu trang, bao chân;
- Găng tay vô trùng;
- Gạc hấp vô trùng;
- Bút marker, bút bi

#### **3. Hồ sơ:**

- Hồ sơ xử lý.

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

Thực hiện tại phòng phẫu thuật/phòng sạch cấp độ B.

#### **Bước 1: Phân tách các thành phần máu**

- Chuyển dịch tủy xương từ trong bộ túi thu thập vào các cốc quay ly tâm bằng bơm tiêm;
- Đặt ống quay vào máy ly tâm;
- Ly tâm 14 phút;
- Nhấc các ống chứa dịch tủy xương ra.

### Bước 2: Thu hoạch tế bào gốc

Dùng bơm tiêm rút bớt huyết tương dư thừa ra ngoài (giữ lại khoảng 10ml plasma trên bề mặt lớp tế bào);

- Trộn đều phần tế bào gốc với phần huyết tương còn lại trong cốc;
- Hút phần đã trộn vào bơm tiêm vô trùng;
- Tráng 2ml Bicarbonate vào một bơm tiêm vô trùng mới;
- Chuyển 40ml tế bào gốc tủy xương vào bơm tiêm vô trùng đã được tráng dung dịch Bicarbonate;
- Lấy 0,5ml tế bào đếm tế bào gốc;
- Thêm lượng huyết tương cho đủ 60ml;
- Chia nhỏ 60ml từ bơm tiêm lớn vào các bơm tiêm nhỏ để chuẩn bị cho việc ghép.

### Bước 3: Kết thúc quy trình

- Bàn giao sản phẩm cho bộ phận sử dụng;
- Hoàn thiện hồ sơ.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Harvest Technologies, Terumo company.** SmartPReP2: Theory of operation. 2006.
2. **Thomas R.Spitzer.** Bone marrow collection. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 23, Method 22-1: Harvesting bone marrow.* p.247-250.

# **BẢO QUẢN ĐÔNG LẠNH TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU BẰNG BÌNH NITƠ LỎNG**

(Cryopreservation of hematopoietic stem cell concentrate in liquid nitrogen)

## **I. NGUYÊN LÝ**

Lưu giữ khối tế bào gốc có chất bảo quản DMSO trong môi trường nitơ lỏng ( $-150^{\circ}\text{C}$  đến  $-196^{\circ}\text{C}$ ).

Nguồn gốc kỹ thuật: Theo quy trình hướng dẫn của hãng Thermo và AABB.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

- Lưu trữ đông lạnh dài ngày khối tế bào gốc;
- Các khối tế bào gốc thu thập và xử lý đạt tiêu chuẩn.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Các khối tế bào gốc không đạt tiêu chuẩn và có nguy cơ nhiễm trùng.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Kỹ thuật viên đã được đào tạo thực hiện quy trình.

### **2. Phương tiện – Hóa chất:**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Phòng thủ thuật đảm bảo vô trùng;
- Tủ an toàn sinh học; tủ lạnh  $4^{\circ}\text{C}$ ;
- Bơm tiêm điện tự động;
- Máy lắc mặt ngang lắc theo kiểu xoắn ốc;
- Máy hàn dây bằng sóng cao tần;
- Máy hàn túi plastic có hút chân không;
- Máy hạ lạnh theo chương trình;
- Bình lưu trữ tế bào bằng nitơ lỏng;
- Túi bao ngoài, hộp bảo vệ;
- Bơm kim tiêm sử dụng một lần các loại và kim tiêm 18G;
- Ống xét nghiệm 0,5 ml;
- Quần áo, khẩu trang, găng tay, mũ vô trùng.

#### **2.2. Hoá chất:**

- DMSO (Sigma); Dextran T40 trong NaCl 0,9%;
- Nguồn nitơ lỏng cho hạ lạnh và lưu trữ tế bào.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Trộn tế bào gốc với dung dịch bảo quản:**

- Khối tế bào gốc: Sau khi đã xử lý và lấy mẫu xét nghiệm xong;
- Chuẩn bị 7ml dung dịch DMSO và Dextran T40 tỷ lệ 1:1 vào bơm tiêm 20ml và giữ ở 4°C;
- Gắn bơm tiêm đã chuẩn bị trên vào đầu có màng lọc 2µl của bộ xử lý, mở van và bơm DMSO đến tận miệng của túi sản phẩm thì khoá van;
- Đặt bộ túi xử lý mẫu và bơm kim DMSO ở 4°C trong 10-15 phút;
- Lấy bộ xử lý mẫu và bơm kim DMSO ra, kẹp túi sản phẩm vào giữa hai miếng gel lạnh đặt lên máy lắc, lắp bơm DMSO vào máy bơm tự động;
- Bật máy lắc và máy bơm DMSO vào túi đông lạnh ở tốc độ 24ml/h;
- Sau khi bơm xong khoá đường DMSO và hàn cắt bỏ đường DMSO;
- Bỏ túi đông lạnh ra khỏi gel lạnh;
- Dừng đứng túi đông lạnh, mở van giữa túi đông lạnh với túi xử lý cho lượng dung dịch DMSO thừa trên ống dẫn chảy hết vào túi xử lý; Mở khoá ở túi lấy mẫu, điều chỉnh van loại bỏ hết khí trong túi đông lạnh;
- Hàn đoạn dây của túi đông lạnh cách miệng túi 0,5cm, đoạn dây tiếp theo 2cm và đoạn dây cuối 5 cm;
- Cho túi đông lạnh vào hộp định vị để hàn tiếp 2 vị trí gần trên túi;
- Cho túi đông lạnh vào túi bao ngoài và hàn đuôi khí bằng máy hàn.

### **2. Hạ lạnh và lưu giữ khối tế bào gốc đã trộn với dung dịch bảo quản:**

- Cho túi đông lạnh vào hộp bảo vệ, dán barcode và cho vào buồng hạ lạnh của máy hạ lạnh theo chương trình;
- Bật máy hạ lạnh theo chương trình, mở khoá cấp nitơ cho máy;
- Chạy chương trình hạ lạnh cho tế bào gốc tạo máu qua 7 bước để mẫu đạt đến nhiệt độ -90°C;
- Kết thúc quy trình hạ lạnh, chuyển mẫu vào bình lưu giữ;
- Hoàn thiện hồ sơ lưu giữ mẫu.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Allison Hubel.** Cryopreservation of cellular therapy products. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 28, p.342-357.
2. **Kelvin G.M.Brockbank, James C.Covault, Michael J.Taylor.** A guide to cryopreservation techniques. *Cryopreservation manual by Artisan technology group-Thermo Scientific corp*, 2003.

# **RÃ ĐÔNG KHỐI TẾ BÀO GỐC ĐÔNG LẠNH**

(Thawing of frozen stem cell concentrate)

## **I. NGUYÊN LÝ**

Sử dụng bình cách thủy 37°C để đưa các sản phẩm tế bào bảo quản đông lạnh về điều kiện sử dụng trong khoảng thời gian nhất định.

Nguồn gốc kỹ thuật: Theo quy trình hướng dẫn của AABB.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Khối tế bào được bảo quản đông lạnh trước khi sử dụng, bao gồm:

- Khối tế bào gốc từ máu ngoại vi, dịch tủy xương, máu dây rốn;
- Các sản phẩm tế bào trị liệu.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Trong các trường hợp không sử dụng.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện: đã được đào tạo thực hiện quy trình.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Bể cách thủy 37°C;
- Bộ bảo hộ khi tiếp xúc với nitơ lỏng;
- Hộp vận chuyển mẫu;
- Hồ sơ lưu mẫu.

#### **2.2. Hóa chất:**

Nước cất.

### **3. Mẫu bệnh phẩm:**

Mẫu sản phẩm tế bào đông lạnh.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. Người thực hiện: mặc đồ bảo hộ;
2. Kiểm tra mực nước cất và nhiệt độ trong bể cách thủy;
3. Lấy sản phẩm đông lạnh ra khỏi hộp vận chuyển/tank lưu trữ;
4. Kiểm tra sự toàn vẹn, đối chiếu thông tin;
5. Đặt mẫu đông lạnh vào bể cách thủy cho tới khi tan đông (khoảng 5 phút);
6. Lấy mẫu để kiểm tra tỷ lệ tế bào sống;

7. Sử dụng sản phẩm rã đông để tiêm/truyền cho người bệnh;
8. Kết thúc quá trình rã đông, hoàn thiện hồ sơ.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Meghan Delaney, Richard L.Haspel.** Thawing and infusing cellular therapy products. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*. Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 31, p.375-396.

# **ĐÁNH GIÁ TỶ LỆ SỐNG CỦA TẾ BÀO**

## **BẢNG KỸ THUẬT NHUỘM XANH TRYPAN**

(Cellular viability assessment using Trypan blue)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Các tế bào chết sẽ bắt màu khi nhuộm xanh trypan và các tế bào sống sẽ không bắt màu. Thông qua đếm số lượng tế bào không bắt màu và bắt màu sau khi nhuộm để tính tỷ lệ sống của tế bào.

Nguồn gốc kỹ thuật: Áp dụng theo quy trình kỹ thuật của AABB

### **II. CHỈ ĐỊNH**

- Máu dây rốn;
- Tế bào gốc máu ngoại vi;
- Dịch tủy xương.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện: được đào tạo phù hợp để thực hiện kỹ thuật.

#### **2. Phương tiện – Hóa chất:**

##### **2.1. Phương tiện:**

- Kính hiển vi quang học vật kính 10X và 40X;
- Máy đếm tế bào huyết học.
- Buồng đếm hồng cầu; lamên;
- Ống eppendorf;
- Pipet các cỡ để hút được 2 $\mu$ l, 10 $\mu$ l, từ 20 đến 100 $\mu$ l;
- Đầu côn vàng.

##### **2.2. Hóa chất:**

- Cồn 70°, nước muối;
- Dung dịch thuốc nhuộm xanh trypan 0,4%.

#### **3. Mẫu bệnh phẩm**

Mẫu máu dây rốn, dịch tủy xương, tế bào gốc máu ngoại vi.

### **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. Tổng phân tích tế bào máu;
2. Chuẩn bị kính hiển vi, buồng đếm gắn sẵn lamên;

3. Pha loãng mẫu với dung dịch nước muối sinh lý, dựa trên số lượng bạch cầu đo được đảm bảo mật độ tế bào khoảng 500 tế bào/ $\mu$ l là phù hợp;
4. Nhuộm với dung dịch xanh trypan theo tỷ lệ 1:1 về thể tích;
5. Nhỏ 10 $\mu$ l tế bào đã nhuộm vào mép lamén để dịch mao dẫn vào trong buồng đếm;
6. Đọc kết quả ở vật kính 40X;
7. Đưa vi trường theo đường zíc-zắc để tránh đếm lặp lại các tế bào, đếm số tế bào sống và tế bào chết trong đó các tế bào chết là tế bào bị nhuộm màu xanh. Đếm tổng số ít nhất 200 tế bào.
8. Tính tỷ lệ tế bào sống:
 
$$\text{Tỷ lệ tế bào sống} = \frac{\text{Số tế bào sống}}{\text{Tổng số tế bào đếm được}} \times 100\%$$
9. Ghi lại kết quả và hoàn thiện hồ sơ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Nicholas Greco, Lynn O'Donnel.** Determining cellular viability using Trypan blue. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*, Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 47, Method 47-1. p.565-566.



# **NUÔI CÂY CỤM TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU**

(Hematopoietic colony-forming cell assays)

## **I. NGUYÊN LÝ**

Trong môi trường nuôi cấy có các chất kích thích phát triển thích hợp tế bào gốc sẽ phát triển thành các cụm biệt hóa của các dòng tế bào khác nhau. Dựa vào phương pháp này để đánh giá chất lượng khối tế bào gốc.

Nguồn gốc kỹ thuật: Theo quy trình kỹ thuật của AABB.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

- Máu dây rốn;
- Tế bào gốc máu ngoại vi;
- Dịch tủy xương.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện: được đào tạo để thực hiện kỹ thuật.

### **2. Phương tiện - Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Tủ an toàn sinh học;
- Tủ nuôi cấy tế bào;
- Kính hiển vi đảo ngược;
- Máy trộn Vortex;
- Micro-pipet;
- 02 ống nghiệm 1ml;
- 06 đĩa Petri d=35mm; 02 đĩa Petri d=100mm;
- 40 ống nghiệm 10ml có nắp tiệt trùng;
- 01 kim Catheran; 01 bơm tiêm một lần 3ml, 02 kim 18G.

#### **2.2. Hóa chất**

- Methycellulose (MethoCult GF H4434V);
- Nước cất.

### **3. Mẫu bệnh phẩm**

Mẫu tế bào gốc máu dây rốn, tế bào gốc tủy xương, tế bào gốc máu ngoại vi.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Nuôi cấy tế bào:**

- Giải đông lọ môi trường methycellulose;
- Trộn kỹ mẫu máu trên máy votex;
- Dùng micro-pipet hút mẫu máu theo thể tích:
  - + Hút 2  $\mu$ l nếu mật độ tế bào nuôi cấy  $< 40$  G/l;
  - + Hút 1  $\mu$ l nếu mật độ tế bào nuôi cấy  $\geq 40$  G/l.
- Cho mẫu máu vừa hút vào ống chứa 2,5ml MethoCult GF H4434V:
- Dùng bơm tiêm 1ml, kim 18G rút chính xác 1ml cho vào đĩa petri d=35mm. Xoay tròn đĩa để môi trường phủ đều khắp mặt đĩa petri;
- Tiến hành tương tự với đĩa thứ 2;
- Đặt 2 đĩa nuôi cấy vào trong đĩa petri d=100mm, đặt thêm một đĩa petri bỏ nắp d=35mm có khoảng 0,5ml nước cất;
- Đặt nắp đĩa petri d=100mm, ghi mã số mẫu và ngày thực hiện;
- Cho đĩa môi trường vào tủ nuôi cấy tế bào ở nhiệt độ  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ ;
- Ghi theo dõi: mã, thể tích, ngày cấy mẫu, ngày đọc kết quả...

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Sau 14 ngày kể từ ngày cấy mẫu, lấy mẫu ra đọc kết quả.

##### 1. Xác định và phân biệt các loại cụm tế bào:

- BFU-e (Burst Forming Unit-erythrocyte):
  - + Số cụm hồng cầu từ 1 đến 2, hoặc bao gồm 8 đến 20 nguyên hồng cầu gọi là CFU-E.
  - + Số cụm hồng cầu  $\geq 3$  cụm, trên 200 nguyên hồng cầu gọi là BFU-E.
- CFU-GM (colony Forming Unit-Granulocyte/Macrophage): Một cụm bao gồm  $\geq 40$  bạch cầu hạt hoặc đại thực bào.
- CFU-Mix (Colony Forming Unit - Mixed): Một cụm bao gồm hồng cầu trưởng thành và  $\geq 20$  bạch cầu hạt/đại thực bào/mẫu tiểu cầu

##### 2. Đánh giá cụm dưới kính hiển vi quang học đảo ngược

| Màu sắc tế bào             | Số lượng tế bào trong một cụm | Đánh giá kết quả |
|----------------------------|-------------------------------|------------------|
| Duy nhất hồng cầu (màu đỏ) | $\geq 8$ tế bào               | 01 BFU-e         |
|                            | $< 8$ tế bào                  | Không đếm        |
| Duy nhất bạch cầu          | $\geq 40$ tế bào              | 01 CFU-GM        |
|                            | $< 40$ tế bào                 | Không đếm        |
| Bạch cầu + Hồng cầu        | $\geq 20$ tế bào bạch cầu     | CFU-Mix          |
|                            | $< 20$ tế bào bạch cầu        | BFU-E            |

|               |  |           |
|---------------|--|-----------|
| Các loại khác |  | Không đếm |
|---------------|--|-----------|

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Emer Clarke.** Colony forming cell assays for determining potency of cellular therapy products. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation, Bethesda, MD:AABB, 2009, chapter 48, p.573-580.*

# **VẬN CHUYỂN TẾ BÀO GỐC SAU BẢO QUẢN**

(Transportation of cryopreserved stem cell)

## **I. NGUYÊN LÝ**

Duy trì nhiệt độ bảo quản đông lạnh trong quá trình vận chuyển để đảm bảo chất lượng của khối tế bào gốc.

Nguồn gốc kỹ thuật: theo quy trình kỹ thuật của AABB.

## **II. CHỈ ĐỊNH**

Khối tế bào gốc lưu trữ đông lạnh.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Khối tế bào gốc chưa đông lạnh hoặc đã rã đông.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Được đào tạo phù hợp để thực hiện kỹ thuật.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1 Phương tiện:**

- Thùng bảo quản lạnh, kèm các thiết bị theo dõi;
- Bộ bảo hộ khi tiếp xúc với nitơ lỏng.

#### **2.2. Hóa chất:**

Nitơ lỏng.

### **3. Mẫu bệnh phẩm:**

Khối tế bào gốc đông lạnh.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Chuẩn bị thùng chuyên dụng chứa nitơ lỏng, hộp bảo vệ (nếu có) và các thiết bị theo dõi nhiệt độ;
- Người thực hiện: thực hiện mặc bộ bảo hộ khi tiếp xúc với nitơ lỏng;
- Cấp nitơ vào thùng chuyên dụng với dung lượng đến vạch quy định;
- Chuyển mẫu vào thùng chuyên dụng, đậy nắp bình đảm bảo nitơ không thoát ra ngoài;
- Niêm phong bằng khóa số hoặc kẹp chì;
- Theo dõi nhiệt độ khoang chứa trong quá trình chuyển mẫu;
- Vận chuyển thùng chứa mẫu đến địa điểm yêu cầu;
- Bàn giao mẫu và hoàn thiện hồ sơ.

**Lưu ý:** Phải có các cảnh báo nguy hiểm theo quy định để tránh người vận chuyển và người khác tiếp xúc trực tiếp với nitơ lỏng.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Donna Regan.** Transporting and shipping of cellular therapy products. *Cellular Therapy: Principle, Method and Regulation*, Bethesda, MD: AABB, 2009, **chapter 30**, p.362-374.

# **ĐỊNH NHÓM HLA ĐỘ PHÂN GIẢI CAO BẰNG KỸ THUẬT SSO-LUMINEX**

(Performing high-resolution HLA typing by SSO Luminex Technique)

## **I. NGUYÊN LÝ**

Dựa trên nguyên lý lai giữa đầu dò DNA với sản phẩm DNA của mẫu xét nghiệm đánh dấu bằng huỳnh quang, trong đó các đầu dò DNA được thiết kế đặc hiệu cho từng alen HLA ở độ phân giải cao (High resolution). Tùy theo mật độ huỳnh quang tương ứng, hệ thống Luminex đọc và xác định được tên đầu dò đã gắn với chuỗi DNA của mẫu và kiểu gen HLA tương ứng.

Nguồn gốc quy trình: theo quy trình kỹ thuật của Hiệp hội Ngân hàng máu Mỹ AABB và của hãng (1,2,3)

## **II. CHỈ ĐỊNH**

- Người bệnh ghép tế bào gốc tạo máu đồng loại, ghép cơ quan từ người cho;
- Mẫu máu của người hiến mô và các cơ quan;
- Các sản phẩm thu được từ người hiến tế bào gốc: máu ngoại vi, dịch tủy xương, máu dây rốn.

## **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Người bệnh ghép tế bào gốc tự thân.

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Cán bộ được đào tạo để thực hiện kỹ thuật.

### **2. Phương tiện – Hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy PCR, máy ủ nhiệt;
- Hệ thống Luminex;
- Máy ly tâm lạnh;
- Máy trộn mẫu vortex;
- Máy tính và phần mềm phân tích kết quả (LABScan);
- Micro Pipet, đầu côn lọc, ống nghiệm 1,5 ml, hốt vô trùng;
- Găng tay, mũ, khẩu trang.

#### **2.2. Hóa chất**

- Kít PCR gồm khay 96 giếng hoặc ống nghiệm chạy PCR, mồi DNA (primer) đặc hiệu HLA, đệm D-mix;

- Kít lai DNA chứa hạt nhựa gắn đầu dò (probe) đặc hiệu DNA đối với từng alen HLA, dung dịch streptavidin gắn huỳnh quang (SAPE), dung dịch đệm lai, đệm hồi tính, đệm biến tính, đệm rửa;

- Taq polymerase;
- Dung dịch sheath chạy máy;
- Cồn 96° – 100°C;
- Nước khử ion.

### **3. Mẫu bệnh phẩm**

Mẫu DNA (nồng độ 20-200 ng/μl) đã tách từ bệnh phẩm máu ngoại vi, máu dây rốn, dịch tủy xương.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Khuếch đại mẫu DNA sau tách**

- Hút 2 μl DNA vào mỗi ống nghiệm hoặc giếng;
- Trộn mỗi DNA, dung dịch đệm D-mix và Taq polymerase theo tỷ lệ phù hợp, trộn đều;
- Thêm 18μl hỗn hợp trên vào mỗi giếng hoặc ống nghiệm đã có DNA, đạt thể tích cuối cùng 20μl;
- Đậy kín phiến hoặc ống nghiệm, chuyển vào máy và chạy PCR.

### **2. Lai sản phẩm DNA đã khuếch đại với hạt SSO**

- *Biến tính và hồi tính:*
  - + Chuyển 5μl sản phẩm DNA khuếch đại vào mỗi giếng của phiến 96 giếng mới (số lượng giếng cần dùng tùy thuộc vào số locus cần xét nghiệm);
  - + Thêm 2,5μl đệm biến tính vào mỗi giếng, trộn đều, ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút;
  - + Thêm 5μl đệm hồi tính, trộn đều;
  - + Giữ phiến trong bể đá trước khi lai.
- *Lai với đầu dò DNA:*
  - + Trộn hạt nhựa gắn đầu dò DNA và đệm lai theo tỷ lệ phù hợp vào mỗi giếng của phiến đã xử lý, đậy chặt phiến, vortex nhẹ;
  - + Ủ phiến trong máy ủ nhiệt ở 60°C, trong 15 phút;
  - + Thêm 100 μl đệm rửa vào mỗi giếng, đậy kín, ly tâm 1.000-1.300g trong 5 phút, hút bỏ dịch nổi, lặp lại bước rửa 2 lần.
- *Đánh dấu và phân tích:*
  - + Hút 50 μl dung dịch SAPE 1X vào mỗi giếng, đậy phiến, trộn nhẹ;

- + Chuyển phiên vào máy ủ nhiệt, ủ phiên ở 60°C trong 5 phút;
- + Rửa phiên, chuyển vào hệ thống máy Luminex để đọc;
- + Chạy máy theo chương trình và phân tích kết quả dựa theo phần mềm đi kèm với kit.

### **3. Trả kết quả**

- Ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm; sổ
- Ký duyệt và kết quả cho bộ phận chỉ định;

### **4. Thu dọn dụng cụ, vệ sinh máy**

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Heather Dunckley** (2012). HLA typing by SSO and SSP methods. *Immunogenetics-Method in Molecular Biology*, **Volume 882**, p 9-25.
2. **Luminex** (2008). Luminex 200 system user manual.
3. **One Lambda** (2008). LAB Type SSO typing test product insert, Canoga Park.



## **CHƯƠNG VI. QUY TRÌNH KỸ THUẬT LÂM SÀNG** **(Clinical techniques)**

### **TRAO ĐỔI HUYẾT TƯƠNG**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Tách huyết tương từ máu của người bệnh bỏ đi và đồng thời truyền trả các thành phần hữu hình của máu cùng với huyết tương thay thế cùng nhóm của người khỏe mạnh hoặc các dung dịch điện giải thay thế.

#### **II. CHỈ ĐỊNH**

##### **1. Bệnh lý thần kinh**

- Bệnh nhược cơ nặng;
- Bệnh viêm mạn tính đa dây thần kinh mất myelin;
- Hội chứng Guillain- Barré.

##### **2. Bệnh về thận**

- Hội chứng Goodpasture;
- Viêm cầu thận ác tính.

##### **3. Bệnh về máu**

- Hội chứng tăng độ quánh máu;
- Thiếu máu tan máu tự miễn;
- Ban xuất huyết giảm tiểu cầu tắc mạch (TTP);
- Ban xuất huyết giảm tiểu cầu sau truyền máu;
- Thiếu máu tan máu ở trẻ sơ sinh do bất đồng nhóm máu mẹ - con.

##### **4. Bệnh chuyển hoá**

- Tăng cholesterol;
- Tăng tryglycerid.

##### **5. Ngộ độc thuốc và các hoá chất**

Thuốc digitalis, asen, quinine...

#### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

- Không có chống chỉ định tuyệt đối;
- Thận trọng trong các trường hợp người bệnh nặng có suy hô hấp, suy tuần hoàn và nhiễm trùng nặng.

#### **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

- Một bác sĩ được đào tạo kỹ thuật trao đổi huyết tương;
- Một y tá được đào tạo kỹ thuật trao đổi huyết tương.

### **2. Phương tiện**

- Máy tách các thành phần máu tự động;
- Dụng cụ và vật tư tiêu hao tùy theo từng loại máy sử dụng và quy định của hãng sản xuất;
- Dung dịch thay thế theo chỉ định của bác sĩ điều trị: huyết tương thay thế cùng nhóm máu người bệnh, albumin...;
- Phiếu theo dõi thực hiện thủ thuật;
- Dụng cụ để chọc tĩnh mạch ngoại vi: bông, cồn, dây garo, băng dính cố định, găng tay, mũ, khẩu trang bảo hộ...;
- Băng đo huyết áp, ống nghe;
- Cơ sở thuốc cấp cứu theo quy định;
- Nếu dùng đường tĩnh mạch trung tâm: Bộ dụng cụ đã tiệt trùng để đặt catheter, ...theo quy trình tiêu chuẩn.

### **3. Người bệnh và người nhà người bệnh**

- Được giải thích kỹ về mục đích trao đổi huyết tương điều trị bệnh, các biến chứng có thể xảy ra trong và sau khi thực hiện thủ thuật, và phải ký vào giấy cam kết chấp nhận làm thủ thuật điều trị;
- Làm các xét nghiệm máu thường qui, các xét nghiệm Viêm gan virus B, C, HIV và các xét nghiệm đặc hiệu khác nếu cần (tùy theo từng bệnh), các xét nghiệm theo dõi và đánh giá kết quả điều trị.

### **4. Nơi làm thủ thuật**

- Nên thực hiện thủ thuật ở phòng vô trùng và có đủ phương tiện cấp cứu khi cần.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Tính toán lượng huyết tương thay thế:**

- Cần tính toán cụ thể số lượng huyết tương dự định loại bỏ và lượng dịch thay thế hoặc huyết tương thay thế truyền vào cho người bệnh theo công thức tính tiêu chuẩn.
- Thông thường máy trao đổi huyết tương trong thời gian 2 giờ có thể loại bỏ từ 1500 - 2000 ml huyết tương, đồng thời cần truyền vào 1500 - 2000 ml dịch thay thế hoặc huyết tương của người khỏe mạnh cùng nhóm máu.

## **2. Đường vào tĩnh mạch**

- Các người bệnh thay thế huyết tương cần có đường vào mạch máu đủ lớn để duy trì lưu lượng dòng chảy máu vào máy và đảm bảo thông thoáng cho đường máu trả về người bệnh, chọn vị trí lấy ven sao cho thủ thuật tiến hành thuận lợi nhất.

- Thiết lập một đường truyền tĩnh mạch ngoại vi khác để có thể song song đưa thuốc vào người bệnh trong trường hợp cần thiết.

## **3. Thiết lập vòng tuần hoàn ngoài cơ thể và trao đổi huyết tương theo quy trình của nhà sản xuất máy**

- Chọn chương trình;
- Chuẩn bị bộ kit;
- Chuẩn bị thực hiện thay thế huyết tương:
  - + Nhập thông tin người bệnh;
  - + Thực hiện quy trình trao đổi huyết tương;
  - + Kết nối người bệnh.

## **VI. THEO DÕI TRONG QUÁ TRÌNH ĐIỀU TRỊ**

Theo dõi hoạt động của máy và tình trạng người bệnh qua màn hình của máy, kết hợp với thăm khám lâm sàng để có thái độ xử trí đúng và kịp thời.

## **VII. CÁC XÉT NGHIỆM MÁU THEO DÕI NGƯỜI BỆNH**

### **1. Xét nghiệm trước và ngay sau khi tiến hành thủ thuật**

- Lấy mẫu máu xét nghiệm máu ngoại vi, máu xét nghiệm trong khoảng thời gian 24h trước khi tiến hành thủ thuật, gồm các xét nghiệm: Tổng phân tích máu ngoại vi, sinh hóa máu (điện giải đồ), đông máu cơ bản.

- Lấy mẫu máu ngay sau khi kết thúc thủ thuật; lấy mẫu máu tổng phân tích máu ngoại vi, xét nghiệm đông máu cơ bản, Sinh hóa máu ngay sau khi kết thúc thủ thuật để đánh giá kết quả và các thay đổi chỉ số máu ngay sau khi thực hiện thủ thuật, từ đó có chỉ định điều chỉnh các thay đổi kịp thời.

### **2. Xét nghiệm theo dõi**

- Sau khi kết thúc thủ thuật tại thời điểm 8h và 24h, tiến hành lấy mẫu xét nghiệm máu ngoại vi về tổng phân tích tế bào, Đông máu cơ bản và Sinh hóa máu để đánh giá thay đổi và hiệu quả của thủ thuật.

- Lưu ý: Vị trí lấy mẫu xét nghiệm tại thời điểm ngay sau kết thúc và ở mỗi lần lấy mẫu xét nghiệm tại một ven, mà ở đó không có đường truyền tĩnh mạch khác đang truyền.

## **VIII. THEO DÕI NGƯỜI BỆNH VÀ ĐIỀU CHỈNH**

**1. Người bệnh phải được theo dõi các dấu hiệu sinh tồn:** mạch, huyết áp, nhiệt độ...

- Theo dõi các thông số của máy và điều chỉnh thông số theo từng loại máy sử dụng.

- Theo dõi các xét nghiệm thường quy và đặc hiệu (tùy theo từng bệnh) để đánh giá kết quả điều trị.

**2. Kết thúc điều trị trả máu về:**

## **IX. NHỮNG TAI BIẾN VÀ XỬ TRÍ**

Trong quá trình điều trị có thể xảy ra các tai biến:

- Tụt huyết áp: Có thể xảy ra nhưng ít, khi huyết áp tối đa dưới 90 mmHg, hoặc giảm trên 30 mmHg ở người có tăng huyết áp: Xử trí truyền dịch NaCl 0,9% hoặc dung dịch cao phân tử, nếu không nâng được huyết áp thì cần sử dụng thuốc vận mạch theo phác đồ tiêu chuẩn.

- Các phản ứng không mong muốn cấp tính khi truyền các chế phẩm máu thay thế: Tùy theo các mức độ biểu hiện trên lâm sàng như mẩn ngứa, sốt, shock...xử trí thuốc theo phác đồ tiêu chuẩn trong “Quy chế truyền máu năm 2007”.

- Chảy máu: Thường gặp khi người bệnh có số lượng tiểu cầu thấp hay các rối loạn đông máu, xử trí truyền tiểu cầu hay các chế phẩm huyết tương phù hợp (huyết tương tươi đông lạnh, tủa lạnh).

- Nhiễm trùng: Đề dự phòng cần tiến hành thủ thuật trong phòng vô trùng tốt và nếu có nhiễm trùng phải sử dụng kháng sinh theo quy định.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Trung C.Nguyen, Joseph E. Kiss, et al. (2012), “the role of plasmapheresis in critical illness” Crit care clin. 2012 july; 28 (3). 453-468

# QUY TRÌNH GẠN BẠCH CẦU ĐIỀU TRỊ

## I. NGUYÊN LÝ

Hệ thống máy gạn tách tự động phân tách và thu nhận bạch cầu đơn nhân theo nguyên lý: Trong suốt quá trình gạn bạch cầu, máu toàn phần của người bệnh được chống đông bằng dung dịch chống đông tại vị trí lấy máu vào máy. Hệ thống buồng ly tâm phân tách máu toàn phần thành 3 lớp, lớp hồng cầu ở phía ngoài cùng, lớp buffy coat chứa bạch cầu ở giữa và lớp huyết tương giàu tiểu cầu ở trong cùng của buồng ly tâm. Hệ thống phân tách thành lớp ổn định giữa bề mặt hồng cầu/huyết tương sau khi quá trình phân tách bề mặt kết thúc, dòng chảy huyết tương trả về người bệnh sẽ được điều chỉnh bởi người vận hành để duy trì bề mặt ổn định. Hệ thống sẽ thu nhận bạch cầu đơn nhân từ buồng ly tâm qua dây thu nhận bạch cầu, trong khi đó huyết tương giàu tiểu cầu sẽ theo dây huyết tương để trộn với hồng cầu để trả về người bệnh theo dây dẫn trả máu.

## II. CHỈ ĐỊNH

Điều trị giảm tế bào lơ xê mi trong bệnh;

- Lơ xê mi cấp có số lượng bạch cầu  $\geq 100$  G/l;
- Lơ xê mi kinh dòng bạch cầu hạt số lượng bạch cầu  $\geq 100$  G/l;
- Tăng bạch cầu có kèm theo triệu chứng tắc mạch.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Không có chống chỉ định tuyệt đối;
- Thận trọng trong trường hợp người bệnh có giảm tiểu cầu kèm theo triệu chứng xuất huyết, người bệnh thiếu máu nặng;
- Người bệnh có rối loạn đông máu (DIC);
- Các tình trạng cấp cứu khác.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

- Bác sĩ ghi y lệnh và thực hiện kỹ thuật gạn bạch cầu điều trị;
- Y tá thực hiện quy trình lấy ven tĩnh mạch và thực hiện theo y lệnh của bác sĩ.

### 2. Phương tiện dụng cụ- hóa chất xét nghiệm

- Hệ thống máy lọc máu tự động;
- Bộ mâm ly tâm một chu trình của máy;
- Bộ sơ đồ lắp dây dẫn gạn bạch cầu điều trị kèm theo máy;

- Bộ kit gạn bạch cầu dùng 1 lần;
- Dung dịch chống đông máu ACD - A túi thể tích 750ml;
- 1000 ml dung dịch nước muối sinh lý 0,9% để tráng bộ kit trong chương trình gạn bạch cầu;
- Bộ dụng cụ lấy máu tĩnh mạch vô trùng.

### **3. Bệnh phẩm**

Mẫu máu tĩnh mạch: để xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu, xét nghiệm sinh hóa, xét nghiệm đông máu.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu;
- Phiếu xét nghiệm sinh hóa máu;
- Phiếu xét nghiệm đông máu.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. Giải thích thủ thuật và ký cam kết thực hiện thủ thuật của người nhà người bệnh.
2. Thực hiện theo quy trình hướng dẫn sử dụng của hệ thống gồm các bước:
  - Chuẩn bị dụng cụ lấy máu tĩnh mạch;
  - Lắp đặt bộ kit tách theo quy trình lắp đặt của máy;
  - Tráng dây bộ kit tách bạch cầu;
  - Nhập các thông số theo yêu cầu của chương trình gạn bạch cầu;
  - Kết nối ven người bệnh với bộ kit gạn bạch cầu;
  - Vận hành theo quy trình của máy gạn bạch cầu;
  - Theo dõi và xử trí lỗi trong quá trình gạn bạch cầu theo hướng dẫn của từng lỗi;
  - Kết thúc chương trình theo đúng quy trình kỹ thuật của máy;
  - Ghi chép hồ sơ các thông tin và kết quả chương trình;
  - Lấy mẫu máu làm xét nghiệm sau khi gạn bạch cầu, tổng phân tích tế bào máu, sinh hóa và đông máu.

## **VI. CÁC XÉT NGHIỆM MÁU THEO DÕI NGƯỜI BỆNH**

### **1. Xét nghiệm trước và ngay sau khi tiến hành thủ thuật**

- Lấy mẫu máu xét nghiệm máu ngoại vi, máu xét nghiệm trong khoảng thời gian 24h trước khi tiến hành thủ thuật, gồm các xét nghiệm: Tổng phân tích máu ngoại vi, sinh hóa máu (điện giải đồ), đông máu cơ bản.

- Lấy mẫu máu ngay sau khi kết thúc thủ thuật; lấy mẫu máu tổng phân tích máu ngoại vi, xét nghiệm đông máu cơ bản, Sinh hóa máu ngay sau khi kết thúc thủ thuật để đánh giá kết quả và các thay đổi chỉ số máu ngay sau khi thực hiện thủ thuật, từ đó có chỉ định điều chỉnh các thay đổi kịp thời.

## **2. Xét nghiệm theo dõi**

- Sau khi kết thúc thủ thuật tại thời điểm 8h và 24h, tiến hành lấy mẫu xét nghiệm máu ngoại vi về tổng phân tích tế bào, Đông máu cơ bản và Sinh hóa máu để đánh giá thay đổi và hiệu quả của thủ thuật.

- Lưu ý: Vị trí lấy mẫu xét nghiệm tại thời điểm ngay sau kết thúc và ở mỗi lần lấy mẫu xét nghiệm tại một ven, mà ở đó không có đường truyền tĩnh mạch khác đang truyền.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Áp lực máu dòng vào quá thấp**

- Kiểm tra xem dây garo có bị gấp hay xoắn không;
- Dây garo có thắt đúng không, thắt lại dây garo cho đúng;
- Kim lấy máu có bị chệch khỏi ven, chỉnh lại kim hoặc lấy lại ven khác.

### **2. Áp lực máu dòng trả về quá cao**

- Kiểm tra dây máu trả về có bị gấp hoặc xoắn không, chỉnh lại dây khỏi gấp, xoắn;
- Kim lấy máu trên đường máu về bị chệch khỏi ven, chỉnh lại kim nếu không được, lấy lại ven khác.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Vũ Văn Đỉnh**, “Hồi sức toàn tập”, Nhà xuất bản y học, 2005, Tr 610-625.
2. Cobespectra apheresis system operators manual.
3. Comtec apheresis system operators manual.
4. Apheresis, 2007.

# QUY TRÌNH GẠN TIỂU CẦU ĐIỀU TRỊ

## I. NGUYÊN LÝ

Hệ thống máy gạn tách tự động phân tách và thu nhận tiểu cầu theo nguyên lý: Trong suốt quá trình gạn tiểu cầu, máu toàn phần của người bệnh được chống đông bằng dung dịch chống đông tại vị trí lấy máu vào máy, hệ thống phân tách máu toàn phần thành 2 lớp. Trong lớp thứ nhất gồm hồng cầu và bạch cầu, trong lớp thứ 2 gồm huyết tương giàu tiểu cầu. Hồng cầu và bạch cầu sẽ trả về người bệnh qua dây thoát của hồng cầu. Huyết tương giàu tiểu cầu sẽ được phân tách lần 2. Tiểu cầu đậm đặc sẽ qua khe thu nhận tiểu cầu và theo dây thu nhận tiểu cầu lên túi thu nhận. Phần huyết tương còn lại sẽ quay trở về người bệnh theo dây huyết tương.

## II. CHỈ ĐỊNH

- Điều trị loại bỏ tiểu cầu khi số lượng tiểu cầu  $\geq 1000$  G/l;
- Loại bỏ tiểu cầu trong trường hợp số lượng tiểu cầu cao kèm theo triệu chứng tắc mạch

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Không có chống chỉ định tuyệt đối;
- Thận trọng trong trường hợp người bệnh có triệu chứng xuất huyết, người bệnh thiếu máu nặng;
- Người bệnh có rối loạn đông máu (DIC);
- Các tình trạng cấp cứu khác.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

- Bác sĩ ghi y lệnh và thực hiện kỹ thuật gạn tiểu cầu điều trị;
- Y tá thực hiện quy trình lấy ven tĩnh mạch và thực hiện theo y lệnh của bác sĩ.

### 2. Phương tiện dụng cụ- hóa chất xét nghiệm

- Hệ thống máy lọc máu tự động;
- Bộ mâm ly tâm tiểu cầu;
- Bộ sơ đồ lắp dây dẫn gạn tiểu cầu điều trị kèm theo máy;
- Bộ kit gạn tiểu cầu dùng 1 lần;
- Dung dịch chống đông máu ACD - A túi thể tích 750ml;



- 1.000 ml dung dịch nước muối sinh lý 0,9% để tráng bộ kit trong chương trình gạn tiểu cầu;
- Bộ dụng cụ lấy máu tĩnh mạch vô trùng.

### **3. Bệnh phẩm**

Mẫu máu tĩnh mạch: để xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu, xét nghiệm sinh hóa, xét nghiệm đông máu.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu;
- Phiếu xét nghiệm sinh hóa máu;
- Phiếu xét nghiệm đông máu.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. Giải thích thủ thuật và ký cam kết thực hiện thủ thuật của người nhà người bệnh
2. Thực hiện theo quy trình hướng dẫn sử dụng của hệ thống gồm các bước:
  - Chuẩn bị dụng cụ lấy ven;
  - Lắp đặt bộ kit tách theo quy trình lắp đặt của máy;
  - Tráng dây bộ kit tách tiểu cầu;
  - Nhập các thông số theo yêu cầu của chương trình gạn tiểu cầu;
  - Kết nối ven người bệnh với bộ kit gạn tiểu cầu;
  - Vận hành theo quy trình của máy gạn tiểu cầu;
  - Theo dõi và xử trí lỗi trong quá trình gạn tiểu cầu theo hướng dẫn của từng lỗi;
  - Kết thúc chương trình theo đúng quy trình kỹ thuật của máy;
  - Ghi chép hồ sơ các thông tin và kết quả chương trình;
  - Lấy mẫu máu làm xét nghiệm sau khi gạn tiểu cầu, tổng phân tích tế bào máu, sinh hóa và đông máu.

## **VI. CÁC XÉT NGHIỆM MÁU THEO DÕI NGƯỜI BỆNH**

### **1. Xét nghiệm trước và ngay sau khi tiến hành thủ thuật**

- Lấy mẫu máu xét nghiệm máu ngoại vi, máu xét nghiệm trong khoảng thời gian 24h trước khi tiến hành thủ thuật, gồm các xét nghiệm: Tổng phân tích máu ngoại vi, sinh hóa máu (điện giải đồ), đông máu cơ bản.
- Lấy mẫu máu ngay sau khi kết thúc thủ thuật; lấy mẫu máu tổng phân tích máu ngoại vi, xét nghiệm đông máu cơ bản, Sinh hóa máu ngay sau khi kết

thúc thủ thuật để đánh giá kết quả và các thay đổi chỉ số máu ngay sau khi thực hiện thủ thuật, từ đó có chỉ định điều chỉnh các thay đổi kịp thời.

## **2. Xét nghiệm theo dõi**

- Sau khi kết thúc thủ thuật tại thời điểm 8h và 24h, tiến hành lấy mẫu xét nghiệm máu ngoại vi về tổng phân tích tế bào, Đông máu cơ bản và Sinh hóa máu để đánh giá thay đổi và hiệu quả của thủ thuật.

- Lưu ý: Vị trí lấy mẫu xét nghiệm tại thời điểm ngay sau kết thúc và ở mỗi lần lấy mẫu xét nghiệm tại một ven, mà ở đó không có đường truyền tĩnh mạch khác đang truyền.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Áp lực máu dòng vào quá thấp**

- Kiểm tra xem dây garo có bị gập hay xoắn không;
- Dây garo có thắt đúng không, thắt lại dây garo cho đúng;
- Kim lấy máu có bị chệch khỏi ven, chỉnh lại kim hoặc lấy lại ven khác.

### **2. Áp lực máu dòng trả về quá cao**

- Kiểm tra dây máu trả về có bị gập hoặc xoắn không, chỉnh lại dây khỏi gập, xoắn;
- Kim lấy máu trên đường máu về bị chệch khỏi ven, chỉnh lại kim nếu không được, lấy lại ven khác.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Vũ Văn Đính**, “Hồi sức toàn tập”, Nhà xuất bản y học, 2005, Tr 610-625.
2. Cobespectra apheresis system operators manual.
3. Comtec apheresis system operators manual.
4. Apheresis, 2007.

# QUY TRÌNH TRUYỀN HÓA CHẤT ĐƯỜNG TĨNH MẠCH

## I. ĐẠI CƯƠNG

Truyền thuốc hóa chất đường tĩnh mạch (hóa trị liệu) là một phương pháp điều trị cơ bản trong ung thư và một số bệnh lý. Đa số các thuốc hóa chất được đưa vào cơ thể bằng đường tĩnh mạch. Tuy nhiên, không đơn giản chỉ là tiêm truyền tĩnh mạch, quy trình truyền hóa chất có những điểm đặc biệt riêng.

## II. CHỈ ĐỊNH

Trong hầu hết các bệnh lý ung thư, có thể sử dụng đơn độc hoặc phối hợp với xạ trị và/hoặc phẫu thuật.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tuổi quá cao (không có giới hạn tuyệt đối, tuy nhiên thường hạn chế khi tuổi > 70 tuổi);
- Suy chức năng cơ quan (suy tim, suy gan, suy thận nặng), phải điều chỉnh liều cho phù hợp;
- Gia đình người bệnh không đồng ý điều trị.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người bệnh

- Giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh về tình trạng bệnh và sự cần thiết phải điều trị hóa chất đường tĩnh mạch, những tác dụng phụ có thể gặp phải (cần hết sức thận trọng, tránh gây ra suy sụp tinh thần ở người bệnh);
- Làm xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu và các xét nghiệm đánh giá chức năng tim, gan, thận: điện tim, siêu âm tim (nếu cần thiết), ure, creatinin, acid uric, men gan, bilirubin;
- Đo chiều cao, cân nặng, tính diện tích da cơ thể của người bệnh (BSA);
- Tiến hành đặt catheter tĩnh mạch trung tâm hoặc buồng truyền dưới da (tùy vào điều kiện thực tế tại mỗi cơ sở điều trị).

### 2. Thuốc, hóa chất

- Thuốc hóa chất sẽ được pha trong dung dịch natri clorua 0.9% hoặc dung dịch glucose 5% (tùy theo đặc tính của từng loại thuốc hóa chất). Việc chuẩn bị thuốc hóa chất trước khi truyền sẽ được thực hiện tại khoa Dược lâm sàng, trong các buồng an toàn sinh học;

- Khoa Dược lâm sàng sẽ chuyển các chai dung dịch hóa chất đã pha với liều lượng theo đúng chỉ định của bác sĩ điều trị đến khoa lâm sàng.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

- Điều dưỡng lâm sàng sau khi nhận thuốc hóa chất đã pha thành dung dịch cần phải kiểm tra lại các thông tin dán trên nhãn chai thuốc, bao gồm: các thông tin hành chính về người bệnh (họ tên, tuổi, giới, năm sinh, số giường bệnh), tên loại thuốc hóa chất, hàm lượng thuốc được pha trong chai, thời điểm pha thuốc, đối chiếu với y lệnh đã ghi trong bệnh án;

- Đo các chỉ số sinh tồn của người bệnh (mạch, nhiệt độ, huyết áp) trước khi tiến hành truyền thuốc hóa chất;

- Thiết lập đường truyền tĩnh mạch cho người bệnh với dung dịch natri clorua 0.9%, nên sử dụng dây truyền đếm giọt. Trong trường hợp không có điều kiện đặt catheter tĩnh mạch trung tâm thì đặt đường truyền tĩnh mạch ngoại vi phải đảm bảo kim nằm trong lòng mạch, tránh lấy các tĩnh mạch nhỏ dễ vỡ dẫn đến thuốc hóa chất ra ngoài mạch làm viêm mô mềm xung quanh;

- Thay chai dung dịch natri clorua 0.9% bằng chai dung dịch hóa chất đã được chuẩn bị sẵn, điều chỉnh tốc độ truyền theo y lệnh ghi trong bệnh án. Một số thuốc đòi hỏi phải được truyền tĩnh mạch liên tục trong 24 giờ hoặc tốc độ truyền tăng dần theo thời gian;

- Theo dõi sát người bệnh trong suốt quá trình truyền thuốc hóa chất đường tĩnh mạch. Một số tác dụng phụ có thể xảy ra ngay khi truyền: phản ứng phản vệ, dị ứng, buồn nôn, nôn, đau đầu, chóng mặt;

- Ngừng truyền thuốc hóa chất ngay nếu có phản ứng bất thường xảy ra, kiểm tra các dấu hiệu sinh tồn, duy trì đường truyền tĩnh mạch bằng dung dịch natri clorua và báo ngay cho bác sĩ điều trị biết để kịp xử trí.

## **VI. NHỮNG TAI BIẾN VÀ XỬ TRÍ**

- Hội chứng tiêu khối u (Tumor lysis syndrome): gây ra bởi sự phá hủy hàng loạt các tế bào u, giải phóng ồ ạt các chất trong bào tương tế bào gây tăng acid uric, tăng kali máu, và gây suy thận cấp. Để hạn chế hội chứng tiêu khối u, cần truyền dịch cho người bệnh trước và sau khi truyền hóa chất song song với sử dụng thuốc lợi niệu, thông thường cần truyền thêm 2000-3000ml dịch/ m<sup>2</sup> da cơ thể.

- Thuốc chống nôn do tác dụng của hóa chất: Ondansetron tiêm tĩnh mạch hoặc uống trước khi bắt đầu truyền hóa chất 20-30 phút. Có thể kết hợp thêm Primperan và/ hoặc Corticoid.

- Duy trì cân bằng nước và điện giải (đặc biệt là kali máu).

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Patient and provider safety with the chemotherapy infusion process, 2011
2. Chemotherapy administration, 2012

## **TRUYỀN MÁU TẠI GIƯỜNG BỆNH**

**(Người bệnh điều trị nội trú và ngoại trú)**

### **I. ĐẠI CƯƠNG**

Truyền máu tại giường bệnh là bước cuối của quy trình truyền máu lâm sàng, Trực tiếp đưa máu của người cho vào máu của người nhận do đó đòi hỏi an toàn cao và theo dõi cẩn trọng tại giường bệnh.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Mỗi loại chế phẩm máu có chỉ định riêng biệt

#### **1. Máu toàn phần**

- Thay thế hồng cầu trong mất máu cấp không kèm theo giảm thể tích toàn phần;
- Truyền thay máu;
- Người bệnh cần truyền hồng cầu mà không có sẵn khối hồng cầu đậm đặc.

#### **2. Khối hồng cầu đậm đặc**

- Thay thế hồng cầu ở người bệnh thiếu máu;
- Sử dụng cùng các dung dịch thay thế (dung dịch keo hoặc dung dịch tinh thể) trong mất máu cấp.

#### **3. Khối tiểu cầu**

Điều trị chảy máu do (giảm số lượng tiểu cầu, giảm chức năng tiểu cầu).

#### **4. Huyết tương tươi đông lạnh**

Điều trị thay thế tình trạng thiếu nhiều yếu tố đông máu;

- Bệnh gan (suy gan, xơ gan);
- Quá liều thuốc chống đông Warfarin;
- Giảm yếu tố đông máu trên người bệnh truyền máu khối lượng lớn;
- Đông máu rải rác trong lòng mạch (DIC);
- Xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối (TTP).

#### **5. Tủa lạnh**

- Thiếu yếu tố VIII (bệnh Hemophilia A);
- Thiếu yếu tố XIII;
- Bệnh Von Willebrand;
- Thiếu hụt fibrinogen, DIC.

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

Không có chống chỉ định

## **IV. CHUẨN BỊ**

### **1. Bảo quản chế phẩm máu trước khi truyền**

#### ***1.1. Hồng cầu và máu toàn phần***

- Hồng cầu và máu toàn phần phải được bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng từ 2°C đến 6°C;

- Hồng cầu và máu toàn phần phải được truyền trong vòng 30 phút sau khi bỏ ra khỏi tủ lạnh.

#### ***1.2. Khối tiểu cầu***

- Khối tiểu cầu phải được đặt trong hộp cách nhiệt chuyên dụng để giữ nhiệt độ vào khoảng 20°C đến 24°C;

- Khối tiểu cầu phải được truyền ngay sau khi lĩnh.

#### ***1.3. Huyết tương tươi đông lạnh và tủa lạnh***

- Huyết tương tươi đông lạnh cần được truyền trong vòng 30 phút sau khi phá đông.

- Nếu chưa cần sử dụng ngay, huyết tương tươi đông lạnh phải được bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 2°C đến 6°C và truyền trong vòng 24 giờ.

### **2. Kiểm tra túi máu trước khi truyền**

- Bất cứ dấu hiệu nào của tan máu trong lớp huyết tương đều là dấu hiệu cho thấy máu đã bị nhiễm khuẩn, bị làm đông hoặc làm ấm ở nhiệt độ quá cao.

- Bất cứ dấu hiệu nào của nhiễm khuẩn, ví dụ như sự đổi màu sắc của hồng cầu, trông sẫm hơn hoặc chuyển màu tím/đen.

- Bất cứ cục máu đông nào cũng cho thấy có thể máu đã không được lắc đúng quy cách để chất chông đông hoà đều khi lấy máu từ người cho.

- Bất cứ dấu hiệu nào cho thấy túi máu bị thủng hoặc bị mở ra từ trước.

*Nếu có bất cứ dấu hiệu bất thường nào tìm thấy trên túi máu thì không được truyền đơn vị máu đó và phải thông báo ngay cho ngân hàng máu.*

### **3. Kiểm tra để xác định chính xác họ tên người bệnh và chế phẩm máu trước khi truyền**

Việc kiểm tra lần cuối này phải được làm ngay tại giường người bệnh ngay trước khi bắt đầu truyền chế phẩm máu, do điều dưỡng hoặc bác sĩ thực hiện.

#### **Kiểm tra xác định chính xác người bệnh lần cuối cùng:**

- Hỏi người bệnh để kiểm tra tên, họ, ngày sinh và các thông tin cần thiết khác.

Nếu người bệnh đang trong tình trạng hôn mê thì cần hỏi người nhà người bệnh hoặc một nhân viên khác để xác định chính xác người bệnh.

- Kiểm tra chính xác người bệnh trên cơ sở đối chiếu với:

- Hồ sơ bệnh án

- Kiểm tra các chi tiết sau trên nhãn hoà hợp dán trên túi máu xem có phù hợp chính xác với hồ sơ người bệnh của người bệnh không:

- + Họ tên người bệnh;

- + Giường bệnh, phòng bệnh hoặc phòng mổ;

- + Nhóm máu của người bệnh;

- + Túi máu;

- + Nhãn hoà hợp.

- Kiểm tra ngày hết hạn của túi máu.

## **V. ĐỊNH LẠI NHÓM MÁU TẠI GIƯỜNG**

Trực tiếp đưa máu (truyền máu) vào tĩnh mạch người bệnh: bước cuối cùng của truyền máu do đó bác sĩ điều trị cần kiểm tra lại kết quả định lại nhóm máu, nếu phù hợp hoàn toàn, theo y lệnh của bác sĩ, điều dưỡng mở khóa dây truyền máu, từ từ 10, 20 giọt cho đến mức tối đa theo y lệnh.

- Truyền máu toàn phần, khối hồng cầu, bạch cầu: sử dụng huyết thanh mẫu định lại nhóm máu ABO của người bệnh và đơn vị máu trước truyền.

- Truyền khối tiểu cầu, huyết tương: sử dụng huyết thanh mẫu định lại nhóm máu ABO của người bệnh và làm phản ứng chéo giữa mẫu máu người bệnh và mẫu chế phẩm máu.

## **VI. THEO DÕI TRUYỀN MÁU VÀ CHẾ PHẨM MÁU**

**1. Đối với mỗi đơn vị máu truyền vào, cần phải theo dõi người bệnh ở từng giai đoạn của quá trình truyền máu**

- Trước khi bắt đầu truyền máu;

- 15 phút sau khi bắt đầu truyền máu;

- Ít nhất mỗi giờ trong quá trình truyền máu;

- Khi truyền máu xong;

- 4 giờ sau khi truyền máu xong.

**2. Tại mỗi giai đoạn nêu trên, cần ghi lại thông tin vào bảng theo dõi người bệnh**

Toàn trạng của người bệnh, các chỉ số sinh tồn

**3. Ghi chép lại vào phiếu truyền máu**

- Thời gian bắt đầu truyền máu;

- Thời gian hoàn tất truyền máu;



- Thể tích và số lượng tất cả các chế phẩm máu được truyền vào;
- Tất cả các phản ứng phụ có hại xảy ra.

## **VII. NHỮNG TAI BIẾN VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Phát hiện và xử trí các tác dụng không mong muốn trong truyền máu và ngay sau truyền máu:**

- Khi xuất hiện các triệu chứng bất thường ở người bệnh đang truyền máu hoặc chế phẩm máu, phải ngừng truyền ngay và báo cáo bác sĩ điều trị để xử trí kịp thời. Khi cần thiết phải mời bác sĩ hoặc người phụ trách của cơ sở cung cấp máu để phối hợp xử trí.

- Trường hợp người bệnh có phản ứng nặng hoặc tử vong có liên quan đến truyền máu thì cơ sở cung cấp máu phải báo cáo ngay với lãnh đạo bệnh viện và cơ sở cung cấp máu để phối hợp tìm nguyên nhân và đề xuất ý kiến giải quyết.

- Lập báo cáo tác dụng không mong muốn liên quan đến truyền máu (theo mẫu số 6), bàn giao cho cơ sở cung cấp máu các túi máu, chế phẩm máu, dây truyền máu và các loại thuốc tiêm, dịch truyền khác sử dụng cho người bệnh vào thời điểm xảy ra tác dụng không mong muốn. Thời gian lưu giữ các bệnh phẩm trên và các mẫu máu có liên quan ít nhất là 14 ngày kể từ lúc xảy ra tác dụng không mong muốn.

- Cơ sở cung cấp máu phải xét nghiệm các mẫu bệnh phẩm để xác định nguyên nhân và lập phiếu xét nghiệm tác dụng không mong muốn liên quan đến truyền máu.

### **2. Phát hiện và xử trí tác dụng không mong muốn xảy ra chậm sau truyền máu:**

Cơ sở điều trị sử dụng máu cần phối hợp với cơ sở cung cấp máu để xác định nguyên nhân tác dụng không mong muốn xảy ra chậm và áp dụng các biện pháp theo dõi và điều trị tích cực theo quy định của Bộ Y tế.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Quy chế truyền máu 2013.
2. Sử dụng máu trong lâm sàng.

# RÚT MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên kỹ thuật như lấy máu từ người cho máu, nhưng trên người bệnh bị bệnh đa hồng cầu cần nhanh chóng tháo bỏ máu để giảm độ quánh của máu, tránh các tai biến do tăng độ quánh máu gây ra, là một phương pháp điều trị bệnh lý tăng sinh quá mức dòng hồng cầu.

## II. CHỈ ĐỊNH

Người bệnh được chẩn đoán bệnh đa hồng cầu có hematocrit  $>0,45(l/l)$  ở nam và  $> 0,42(l/l)$  ở nữ.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Không có chống chỉ định tuyệt đối;
- Thận trọng ở người bị bệnh lý tim mạch, phụ nữ mang thai.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Cần 01 Bác sĩ, 01 điều dưỡng đã được đào tạo chuyên khoa huyết học truyền máu.

### 2. Phương tiện dụng cụ

- Túi lấy máu chất dẻo loại 350 ml trở lên;
- Dây ga ro, bông băng, cồn sát trùng;
- Ống nghe, huyết áp kế;
- Cân túi máu...

### 3. Người bệnh: Có chỉ định rút máu

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Thăm khám người bệnh, làm xét nghiệm công thức máu, độ quánh máu.
2. Giải thích cho người bệnh và người nhà về lợi ích của việc tháo máu và các khó khăn khi rút máu.
3. Thông báo cho điều dưỡng chuẩn bị dụng cụ phương tiện để tiến hành rút máu
4. Thực hiện rút máu theo các bước sau.

Bước 1: Chuẩn bị người bệnh: để người bệnh nằm ngửa, tư thế đầu thấp, thả mái, Xác định vị trí chọc kim tháo máu.

Bước 2: Chuẩn bị túi tháo máu ghi thông tin người bệnh trên túi, ghi rõ máu hủy, làm một nút thắt mỏng cách kim khoảng 10cm, đảm bảo khi tháo máu vẫn chảy được qua nút thắt bình thường.

Bước 3: Ga ro trên vị trí tháo máu 7-10 cm, sát trùng.

Bước 4: Chọc tĩnh mạch cho máu chảy vào túi máu.

Bước 5: Không tháo dây ga ro để máu chảy vào túi máu, có thể bảo người bệnh nắm mở tay nhẹ nhàng để máu chảy nhanh và đều hơn, đến khi đủ lượng máu cần tháo.

Bước 6: Thắt chặt nút thắt đã làm, tháo bỏ ga ro, rút kim, băng cầm máu vị trí chọc.

Bước 7: Chuyển túi máu hủy theo qui chế rác thải y tế.

Bước 8: Theo dõi sát người bệnh trong quá trình rút máu và sau rút máu 15 phút.

Bước 9: Ghi chép bệnh án tình trạng trước sau tháo máu, toàn thân, mạch nhiệt độ, huyết áp. Ghi sổ thủ thuật theo quy định.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Người bệnh thấy dễ chịu, nhiều người bệnh hết triệu trứng đau đầu, khó chịu, các tác dụng phụ xảy ra hết nhanh.

- Máu rút đủ số lượng theo chỉ định, thủ thuật an toàn.

## **VII. NHỮNG TAI BIẾN VÀ XỬ TRÍ**

- Ngất xỉu, hạ huyết áp.. Xử lý nằm đầu thấp, thở sâu, rút máu tốc độ chậm lại, trợ tim, trường hợp nặng ngừng tim, ngừng hô hấp (rất hiếm) tiến hành hồi sức nhân tạo ngay.

- Buồn nôn và nôn: sẽ hết dần.

- Co giật hay co cứng cơ: sẽ hết dần.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Đỗ Trung Phần, “Tế bào gốc và bệnh lý tế bào gốc tạo máu, chẩn đoán, phân loại điều trị”, NXB Y học, 2008, Tr 291-298.
2. Bài giảng Huyết học – Truyền máu sau đại học “Các bệnh tăng sinh tủy mạn ác tính”, NXB Y học, 2006, Tr 138-142.

# CHỌC TỦY SỐNG LẤY DỊCH NÃO TỦY XÉT NGHIỆM

## I. NGUYÊN LÝ

Là phương pháp đưa kim vào khoang dưới nhện vùng thắt lưng để lấy dịch não tủy.

## II. CHỈ ĐỊNH

### 1. Các bệnh nhiễm khuẩn

- Viêm màng não
- Viêm não
- Áp xe não

### 2 Các bệnh viêm không do nhiễm khuẩn

- Xơ hệ thống.
- Guillain - Barré.
- Bệnh Luput ban đỏ hệ thống.

### 3. Các bệnh ung thư

- Lơxêmi cấp dòng Tủy, dòng Lympho và U lympho có thâm nhiễm thần kinh trung ương.
- Các bệnh ung thư có thâm nhiễm não và màng não.
- U não.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Tăng áp lực nội sọ quá cao do khối u choán chỗ hoặc do tắc hệ thống dẫn lưu của não thất.
- Chấn thương tủy hoặc chèn ép tủy.
- Nhiễm trùng tại chỗ vị trí chọc dò.
- Bệnh lý giảm tiểu cầu, rối loạn đông máu.
- Suy hô hấp, suy tuần hoàn nặng.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

- Bác sĩ
- Điều dưỡng phụ (nếu bệnh nhi thì cần thêm 1 điều dưỡng)

### 2. Phương tiện, dụng cụ

- Kim chọc dò kích cỡ 22G hoặc 20G, với trẻ em thì sử dụng kim ngắn hơn.
- Bơm tiêm

- Thuốc gây tê.
- Dung dịch sát khuẩn Povidone Iodine 10% (Betadine)
- Khăn vô khuẩn.
- Ống nghiệm (4 ống).

### **3. Người bệnh**

Được giải thích kỹ về mục đích làm thủ thuật, người thực hiện:, nơi và thời gian thực hiện. Người bệnh được dặn không ăn uống gì và đại tiểu tiện trước khi và sau khi thực hiện thủ thuật.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Sinh hóa nước dịch.
- Tế bào nước dịch.
- Nuôi cấy vi khuẩn.
- Các xét nghiệm đặc thù chuyên khoa khác (BK, PCR lao, tìm nấm, virus...)

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Tư thế người bệnh**

Người bệnh ngồi hoặc nằm cong lưng về phía thầy thuốc, cúi gập đầu về phía ngực, co hai đùi và căng chân về phía bụng. Với trẻ em thì cần một điều dưỡng một tay giữ gáy một tay giữ khoeo chân chân để tránh phản ứng bất thường.

### **2. Xác định mốc.**

Đường nối hai mào chậu của người bệnh sẽ đi qua thân đốt sống L4, vị trí chọc thường ở giữa L3-L4 hoặc cao hơn L2-L3.

### **3. Sát trùng và gây tê.**

Bác sĩ tiến hành thủ thuật đi găng vô khuẩn, sát trùng vị trí chọc từ trong ra ngoài. Trải khăn vô khuẩn. Điều dưỡng đưa bơm tiêm có thuốc gây tê để thủ thuật viên gây tê cho người bệnh.

### **4. Tiến hành chọc dò.**

Chọc kim chính giữa cột sống tại vị trí khe giữa hai đốt sống một góc chéo 15<sup>0</sup>, đưa kim qua da, tổ chức dưới da, các dây chằng cột sống, khoang ngoài màng cứng, màng cứng rồi vào khoang dưới nhện. Kéo nòng kim để dịch chảy ra.

Nếu không thấy dịch phải rút kim ra và điều chỉnh lại.

5. Điều dưỡng viên đưa áp kế cho thủ thuật viên đo áp lực dịch não tủy. Tiếp đó lần lượt hứng dịch não tủy vào từng ống xét nghiệm.

6. Thủ thuật viên rút kim chọc dò, điều dưỡng phụ đặt gạc lên vùng lưng vừa chọc và dán băng giữ bên ngoài.

7. Người bệnh nằm sấp hoặc nằm nghiêng sau chọc dò. Theo dõi toàn trạng người bệnh.

8. Thủ thuật viên ghi kết quả việc chọc dò vào hồ sơ bệnh án. Điều dưỡng kiểm tra họ tên người bệnh trên ống và giấy xét nghiệm, ghi chép vào phiếu chăm sóc người bệnh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Dịch não tủy bình thường**

- Dịch trong không màu.
- Áp lực 50-180mmHg
- Protein 15-40mg/100ml.
- Glucose 50-80mg/100ml.
- Tế bào: 0-4 bạch cầu/mm<sup>3</sup>.

### **2. Dịch não tủy bệnh lý**

#### **2.1 Thay đổi về áp lực.**

- Tăng áp lực dịch não tủy do khối u chèn chỗ hoặc do nhiễm trùng.
- Giảm áp lực dịch não tủy do tắc nghẽn lưu thông phía trên chỗ chọc dò.

#### **2.2 Thay đổi màu sắc.**

- Dịch đục do tăng bạch cầu trong dịch não tủy thường gặp do nhiễm khuẩn.
- Màu đỏ do chảy máu khoang dưới nhện, chấn thương do chính thủ thuật.
- Màu vàng do tổn thương lao, chảy máu cũ.

#### **2.3 Thành phần dịch não tủy.**

- Tăng protein: Do viêm, khối u, chảy máu vào dịch não tủy.
- Giảm protein: Dịch não tủy tiết ra nhiều hơn bình thường.
- Glucose tăng: Tăng đường máu toàn thân.
- Glucose giảm: Nhiễm trùng, lao.
- Tăng bạch cầu: Viêm màng não, áp xe não, thâm nhiễm do bệnh ác tính.
- Có hồng cầu: Do chảy máu khoang dưới nhện, chạm vào mạch máu vùng chọc dò.

## **VII. NHỮNG TAI BIẾN VÀ XỬ TRÍ**

- Thoát vị não (lột hạnh nhân tiểu não hoặc lột cực thái dương) có thể gây tử vong. Nếu nghi ngờ có thể chụp CT trước.
- Nhức đầu sau chọc dò: Nằm nghỉ, giảm đau.
- Chảy máu ở vị trí chọc có thể gây chèn ép tủy hoặc chảy máu vào tủy sống: Theo dõi và điều chỉnh rối loạn đông cầm máu nếu có.
- Nhiễm khuẩn: Kháng sinh toàn thân
- Rỉ dịch tại chỗ chọc: Theo dõi và vệ sinh tại chỗ.
- Choáng do đau hoặc thuốc gây tê: Xử trí theo phác đồ chống choáng.

### **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Hướng dẫn quy trình kỹ thuật bệnh viện, tập 1, Nhà xuất bản y học, 1999, tr 61-63.

# CHỌC TỦY SỐNG TIÊM HÓA CHẤT NỘI TỦY

## I. NGUYÊN LÝ

Là phương pháp đưa hóa chất qua kim chọc dò vào khoang dưới nhện vùng thất lưng để điều trị.

## II. CHỈ ĐỊNH

- Điều trị hoặc dự phòng thâm nhiễm thần kinh trung ương bệnh Loxêmi cấp dòng Tủy, dòng Lympho và U lympho;
- Các bệnh ung thư có di căn não và màng não;
- Dự phòng thâm nhiễm thần kinh trung ương trong Hội chứng thực bào máu.

## III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH

- Nhiễm trùng tại chỗ vị trí chọc;
- Giảm tiểu cầu nặng, rối loạn đông máu;
- Suy hô hấp, suy tuần hoàn nặng.

## IV. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

- Bác sĩ;
- Điều dưỡng phụ (nếu bệnh nhi thì cần thêm 1 điều dưỡng).

### 2. Phương tiện, dụng cụ

- Kim chọc dò kích cỡ 22G hoặc 20G, với trẻ em thì sử dụng kim ngắn hơn;
- Bơm tiêm;
- Thuốc gây tê;
- Hóa chất điều trị: Thường được sử dụng là Cytarabin, Methotrexate hoặc Methylprednisolone;
- Dung dịch sát khuẩn Povidone Iodine 10% (Betadine);
- Khăn vô khuẩn;
- Ống nghiệm (2 ống).

### 3. Người bệnh

Được giải thích kỹ về mục đích làm thủ thuật, người thực hiện:, nơi và thời gian thực hiện. Người bệnh được dặn không ăn uống gì và đại tiểu tiện trước khi và sau khi thực hiện thủ thuật.

### 4. Phiếu xét nghiệm



- Sinh hóa nước dịch;
- Tế bào nước dịch.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Tư thế người bệnh**

Người bệnh ngồi hoặc nằm cong lưng về phía thầy thuốc, cúi gập đầu về phía ngực, co hai đùi và căng chân về phía bụng. Với trẻ em thì cần một điều dưỡng một tay giữ gáy một tay giữ khoeo chân chân để tránh phản ứng bất thường.

### **2. Xác định mốc.**

Đường nối hai mào chậu của người bệnh sẽ đi qua thân đốt sống L4, vị trí chọc thường ở giữa L3-L4 hoặc cao hơn L2-L3.

### **3. Sát trùng và gây tê.**

Bác sĩ tiến hành thủ thuật đi găng vô khuẩn, sát trùng vị trí chọc từ trong ra ngoài. Trải khăn vô khuẩn. Điều dưỡng đưa bơm tiêm có thuốc gây tê để thủ thuật viên gây tê vị trí chọc.

### **4. Tiến hành tiêm tủy sống.**

Chọc kim chính giữa cột sống tại vị trí khe giữa hai đốt sống một góc chéo 15°, đưa kim qua da, tổ chức dưới da, các dây chằng cột sống, khoang ngoài màng cứng, màng cứng rồi vào khoang dưới nhện. Kéo nòng kim để dịch chảy ra. Nếu không thấy dịch phải rút kim ra và điều chỉnh lại.

5. Điều dưỡng viên lần lượt hứng dịch não tủy vào từng ống xét nghiệm. Thủ thuật viên lắp bơm tiêm có sẵn hóa chất vào đốc kim và rút nhẹ nếu thấy có dịch chảy vào bơm tiêm thì mới được bơm thuốc, nếu không phải điều chỉnh lại kim cho đến khi hút được dịch ra.

6. Thủ thuật viên rút kim tiêm tủy, điều dưỡng phụ đặt gạc lên vùng lưng vừa chọc và dán băng giữ bên ngoài.

7. Người bệnh nằm sấp hoặc nằm nghiêng sau khi tiêm. Theo dõi toàn trạng người bệnh.

8. Thủ thuật viên ghi kết quả việc tiêm tủy sống vào hồ sơ bệnh án. Điều dưỡng kiểm tra họ tên người bệnh trên ống và giấy xét nghiệm, ghi chép vào phiếu chăm sóc người bệnh.

## **VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Khi rút bơm tiêm có dịch trong chảy ra và khi bơm thuốc thấy nhẹ là thuốc đã vào khoang dưới nhện;

- Dịch não tủy có màu hồng do kim chạm vào mạch máu vùng chọc dò;
- Bơm thuốc thấy nặng có thể kim chưa vào đúng khoang dưới nhện hoặc vùng tiêm bị xơ do những lần tiêm trước.

## **VII. NHỮNG TAI BIẾN VÀ XỬ TRÍ**

- Nhức đầu sau chọc dò: Nằm nghỉ, giảm đau;
- Chảy máu ở vị trí chọc có thể gây chèn ép tủy hoặc chảy máu vào tủy sống: Theo dõi và điều chỉnh rối loạn đông cầm máu nếu có;
- Nhiễm khuẩn tại chỗ hoặc hệ thống não tủy: Kháng sinh toàn thân;
- Rỉ dịch tại chỗ chọc: Theo dõi và vệ sinh tại chỗ;
- Choáng do đau hoặc thuốc gây tê: Xử trí theo phác đồ chống choáng.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. *Hướng dẫn quy trình kỹ thuật bệnh viện*, tập 1, Nhà xuất bản y học, 1999, tr 61-63.

# **GHÉP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU TỰ THÂN**

## **(Autologous stem cell transplantation)**

### **I. ĐẠI CƯƠNG**

Ghép tế bào gốc tạo máu tự thân là phương pháp sử dụng tế bào gốc của người bệnh ghép lại cho người bệnh. Đây là một phương pháp được xem như một đợt hóa trị liệu liều cao nhằm mục đích điều trị cho các bệnh máu ác tính không đáp ứng với các phác đồ đa hóa trị liệu chuẩn hoặc tái phát. Hiệu quả của ghép tế bào gốc tự thân chủ yếu có được là nhờ đa hóa trị liệu liều cao. Đây là một biện pháp hỗ trợ hệ thống sinh máu của người bệnh phục hồi nhanh chóng sau đa hóa trị liệu liều cao để phòng tránh những biến chứng đe dọa tính mạng người bệnh.

Nguồn tế bào gốc tạo máu có thể là tế bào gốc tủy xương hoặc tế bào gốc máu ngoại vi. Bên cạnh đó có thể sử dụng tế bào gốc máu dây rốn tự thân đã bảo quản lạnh.

Tiêu chuẩn số lượng tế bào gốc tạo máu đủ để ghép dựa vào số lượng tế bào CD34+ phải đạt  $> 3 \times 10^6/\text{kg}$  cân nặng của người bệnh.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

#### **Ghép tự thân**

- Các bệnh ác tính về máu: Đa u tủy xương, U lympho không Hodgkin, loxêmi cấp dòng tủy...
- Các bệnh u bướu: ung thư vú, buồng trứng, phổi, u tế bào mầm...
- Các bệnh tự miễn: ban đỏ rải rác, xơ hoá hệ thống, viêm khớp dạng thấp, xuất huyết giảm tiểu cầu miễn dịch...

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

- Tuổi trên 65 đối với Đa u tủy xương và trên 60 tuổi đối với U lympho ác tính không Hodgkin;
- Người bệnh có các bệnh lý về gan, thận, phổi và bệnh tim.

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, điều dưỡng và kỹ thuật viên chuyên khoa huyết học - truyền máu.

## **2. Phương tiện**

### **2.1. Buồng bệnh:**

- Buồng bệnh có hệ thống lọc không khí áp lực dương;
- Hệ thống nước sinh hoạt trong buồng bệnh đã được lọc vi khuẩn;
- Hệ thống máy gạn tách tế bào gốc máu ngoại vi;
- Hệ thống máy theo dõi các dấu hiệu sinh tồn và các khí trong máu, máy điện tim, máy giúp thở;

### **2.2. Thuốc:**

- Các thuốc đặc trị:
  - + Huy động tế bào gốc: dùng các thuốc kích thích tăng trưởng tế bào gốc tạo máu (G-CSF, GM-CSF).
  - + Thuốc điều trị trước ghép: tùy từng bệnh có phác đồ và có các loại thuốc khác nhau.
  - + Thuốc điều kiện hóa cho ghép: tùy theo từng bệnh.
- Các thuốc hỗ trợ khác.

## **3. Người bệnh**

- Người bệnh đã đạt được lui bệnh hoàn toàn hoặc một phần bằng hoá trị liệu;
- Người bệnh không mắc bệnh di truyền bẩm sinh, không bị các bệnh tim, gan, thận;
- Người bệnh và gia đình đồng ý tiến hành ghép tế bào gốc.

## **4. Hồ sơ bệnh án:** theo quy định của Bộ Y tế.

## **V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**Bước 1:** Người bệnh được điều trị hóa chất trước ghép theo phác đồ. Đặt catheter Hiskman vào tĩnh mạch trung tâm.

**Bước 2:** Chuẩn bị khối tế bào gốc cho ghép

- + Huy động tế bào gốc ở người bệnh: Tiêm thuốc kích bạch cầu G-CSF đơn thuần với liều 10 µg/kg/ngày hoặc phối hợp Cyclophosphamide (liều 2g/m<sup>2</sup>, 1 lần) với G-CSF. Đếm số lượng bạch cầu và số lượng tế bào CD34+

hàng ngày. Nếu số lượng tế bào CD34+ > 10 tế bào/ml thì tiến hành thu thập tế bào gốc máu ngoại vi.

- + Thu thập tế bào gốc máu ngoại vi bằng máy tách tế bào trong túi tế bào gốc. Kết thúc thu gom khi số lượng CD34+ >  $3 \times 10^6$ /kg cân nặng.

- + Lưu trữ tế bào gốc máu ngoại vi ở nhiệt độ  $-196^{\circ}\text{C}$  trong nitơ lỏng hoặc nhiệt độ  $2-8^{\circ}\text{C}$  trong vòng 72 giờ.

**Bước 3:** Điều kiện hóa trước ghép cho người bệnh: tùy theo từng bệnh, ví dụ:

- + Đa u tủy xương: Melphalan liều  $200\text{mg}/\text{m}^2$

- + U lympho ác tính không Hodgkin: phác đồ BEAM hoặc LEED.

**Bước 4:** Truyền khối tế bào gốc và chăm sóc

- + Truyền khối tế bào gốc: truyền vào thời điểm 24h sau khi kết thúc điều kiện hóa. Nếu là dịch tủy xương hoặc tế bào gốc ngoại vi truyền 40 giọt/phút. Nếu dịch tế bào máu dây rốn thì bơm chậm qua ống thông Hiskman từ 10 - 15 phút.

- + Chăm sóc người nhận ghép: Theo phương pháp chăm sóc toàn diện. Theo dõi xét nghiệm tổng phân tích máu hàng ngày, các xét nghiệm chức năng gan, thận 3 ngày/lần.

- + Chống nhiễm khuẩn, nhiễm nấm: Sử dụng kháng sinh phòng ngừa.

- + Truyền chế phẩm máu: truyền khối hồng cầu và khối tiểu cầu gạn tách từ một người cho khi có chỉ định.

- + Sử dụng thuốc kích bạch cầu (G-CSF, GM-CSF).

- + Kiểm tra tủy đồ ngày thứ 30 sau ghép.

**Bước 5:** Đánh giá người bệnh để ra viện:

- Người bệnh không sốt, không cần dinh dưỡng qua đường tĩnh mạch;
- Không cần truyền tiểu cầu hay ít hơn 2 tuần/lần;
- Số lượng tuyệt đối bạch cầu trung tính (ANC) >  $1\text{G}/\text{L}$ .

## VI. THEO DÕI

- Theo dõi diễn biến của các dấu hiệu sinh tồn, lượng khí trong máu lúc ghép hoặc thu thập tế bào gốc máu ngoại vi.

- Theo dõi lâm sàng và xét nghiệm sau ghép cho đến khi tủy đã mọc trong cơ thể người bệnh.

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Trong quá trình truyền tế bào gốc: thường không có tai biến; có thể có tăng huyết áp cần cho thuốc hạ áp, phản ứng rét run do dị ứng xử trí corticoid...

- Sau ghép: có thể có sốt nhiễm trùng, nhiễm nấm cần điều trị bằng kháng sinh tĩnh mạch.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Jo JC, Kang BW, Jang G, Sym SJ, Lee SS, Koo JE, Kim JW, Kim S, Huh J, Suh C.** BEAC or BEAM high-dose chemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in non-Hodgkin's lymphoma patients: comparative analysis of efficacy and toxicity. *Ann Hematol.* 2008 Jan;87(1):43-8
2. **Takamatsu H, Munemoto S, Murata R, Terasaki Y, Nakajima K, Nakao S.** Post-transplantation Consolidation and Maintenance Therapy with lenalidomide for Japanese Patients with Multiple Myeloma. *Anticancer Res.* 2013 Dec;33(12):5681-5.
3. **McCarthy PL, Hahn T.** Strategies for induction, autologous hematopoietic stem cell transplantation, consolidation, and maintenance for transplantation-eligible multiple myeloma patients. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* ;2013:496-503.
4. **Fratino L, Rupolo M, Mazzuccato M, Berretta M, Lleshi A, Tirelli U, Michieli M.** Autologous stem cell transplantation as a care option in elderly patients. A review. *Anticancer Agents Med Chem.* 2013 Nov;13(9):1419-29.

# **GHÉP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU ĐỒNG LOẠI**

## **(Allogeneic stem cell transplantation)**

### **I. ĐẠI CƯƠNG**

Ghép tế bào gốc đồng loại là phương pháp truyền tế bào gốc tạo máu từ người cho cùng huyết thống hay không cùng huyết thống phù hợp hệ kháng nguyên bạch cầu HLA (Human Leukocyte Antigen).

Nguồn tế bào gốc tạo máu có thể là tế bào gốc tủy xương. Tuy nhiên, hiện nay tế bào gốc ở máu ngoại vi dần thay thế. Bên cạnh đó có thể sử dụng tế bào gốc máu dây rốn.

Tiêu chuẩn số lượng tế bào gốc tạo máu đủ để ghép dựa vào số lượng tế bào CD34+ phải đạt  $> 3 \times 10^6/\text{kg}$  cân nặng của người bệnh.

### **II. CHỈ ĐỊNH**

Ghép đồng loại

- Các bệnh máu ác tính: lờxêmi cấp, lờxêmi kinh, rối loạn sinh tủy, U lympho ác tính.

- Các bệnh di truyền bẩm sinh

- Các bệnh lý huyết học không ác tính: suy tủy xương, đái huyết sắc tố, Thalassemia...

### **III. CHỐNG CHỈ ĐỊNH**

- Người bệnh có các bệnh lý về gan, thận, phổi và tim bẩm sinh, suy tim.

- Tuổi  $> 55$ .

### **IV. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, điều dưỡng và kỹ thuật viên chuyên khoa huyết học - truyền máu.

#### **2. Phương tiện**

##### **2.1. Buồng bệnh**

- Buồng bệnh có hệ thống lọc không khí áp lực dương;

- Hệ thống nước sinh hoạt trong buồng bệnh đã được lọc vi khuẩn;

- Hệ thống máy gan tách tế bào gốc máu ngoại vi;

- Hệ thống máy theo dõi các dấu hiệu sinh tồn và các khí trong máu, máy điện tim, máy giúp thở;

##### **2.2. Thuốc:**

- Các thuốc đặc trị

- + Huy động tế bào gốc: sử dụng các thuốc kích thích tăng trưởng tế bào (G-CSF, GM-CSF);
- + Diệt tuỷ xương: Busulfan, Melphalan.
- + Thuốc ức chế miễn dịch: Fludarabin, Cyclophosphamide, ATG.
- + Thuốc ức chế miễn dịch phòng ghép chống chủ: Cyclosporin A, Methotrexate, Cellcept (MMF), Tacrolimus.
- Các thuốc hỗ trợ khác.

### 2.3. Vật tư tiêu hao:

- Bộ kit lọc bạch cầu của khối hồng cầu, tiểu cầu;
- Kit sàng lọc CMV cho chế phẩm máu.

### 3. Người bệnh

- Người bệnh đã đạt được lui bệnh hoàn toàn hoặc một phần bằng điều trị bằng điều trị hoá chất;
- Người bệnh không mắc bệnh di truyền bẩm sinh, không bị các bệnh tim, gan, thận;
- Người cho sản phẩm ghép bao gồm tuỷ xương, tế bào gốc tạo máu ngoại vi hay máu dây rốn phải khoẻ mạnh; không bị các bệnh nhiễm trùng đặc biệt là HIV; không bị nhiễm HCV, HBV giai đoạn tiến triển; không mắc các bệnh ở tim, gan, thận... không có nguy cơ tuần hoàn, hô hấp khi chiết tách tế bào gốc máu ngoại vi và nguy cơ biến chứng gây mê khi lấy tuỷ xương.

### 4. Hồ sơ bệnh án: theo quy định của Bộ Y tế.

## V. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**Bước 1:** Kiểm tra xét nghiệm HLA người cho và người nhận. Nếu phù hợp thì tiến hành bước 2.

**Bước 2:** Kiểm tra lâm sàng người cho và người nhận về tim, phổi, thần kinh... các xét nghiệm máu; chức năng gan, thận, các yếu tố lây nhiễm...; các xét nghiệm phân tích nước tiểu, điện tim, siêu âm tim...

**Bước 3:** Chuẩn bị khối tế bào gốc cho ghép:

- Huy động tế bào gốc của người cho: tiêm thuốc kích bạch cầu G-CSF với liều 10 µg/kg/ngày. Đếm số lượng bạch cầu và số lượng tế bào CD34+ hàng ngày. Nếu số lượng tế bào CD34+ > 10 tế bào/ml thì tiến hành thu thập tế bào gốc máu ngoại vi.
- Thu thập tế bào gốc máu ngoại vi bằng máy tách tế bào trong túi tế bào gốc. Kết thúc thu gom khi số lượng CD34+ > 3x10<sup>6</sup>/kg cân nặng.



- Lưu trữ tế bào gốc máu ngoại vi ở nhiệt độ -196°C trong nitơ lỏng hoặc nhiệt độ 2-80°C trong vòng 72 giờ.

**Bước 4:** Người bệnh được đặt ống thông Hiskman vào tĩnh mạch trung tâm và điều trị điều kiện hóa theo phác đồ giảm cường độ liều hay diệt tủy theo phác đồ.

**Bước 5:** Truyền khối tế bào gốc: truyền vào thời điểm 24-48h sau khi kết thúc điều kiện hóa. Nếu là dịch tủy xương hoặc tế bào gốc ngoại vi truyền 40 giọt/phút. Nếu dịch tế bào máu dây rốn thì bơm chậm qua ống thông Hiskman từ 10 - 15 phút.

**Bước 6:** Các bước theo dõi và xử trí biến chứng sau ghép.

+ Phòng ghép chống chủ nếu ghép từ anh chị em ruột phù hợp HLA: Sử dụng các thuốc ức chế miễn dịch (Cyclosporin A) từ ngày D-4, liều 3 mg/kg/ngày (tĩnh mạch) hoặc 5mg/kg/ngày (uống). Phối hợp methotrexate liều thấp 5mg/m<sup>2</sup>/ngày x ngày thứ 1, 3, 6.

+ Chống nhiễm khuẩn, nấm: Có thể sử dụng kháng sinh phòng ngừa.

+ Sử dụng các chế phẩm máu: loại bạch cầu bằng máy lọc bạch cầu, tia xạ gamma và sàng lọc CMV âm tính.

+ Sử dụng thuốc kích bạch cầu (G-CSF, GM-CSF) tùy từng trường hợp.

+ Chăm sóc người nhận ghép: Theo dõi lượng nước đưa vào (ăn, uống, truyền dịch) và lượng nước thải ra phải đảm bảo cân bằng. Theo dõi xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu hàng ngày, các xét nghiệm chức năng gan, thận 3 ngày/lần.

+ Kiểm tra: các xét nghiệm định lượng CMV và nồng độ Cyclosporin định kỳ, kiểm tra tủy đồ ngày thứ 30 sau ghép.

**Bước 7:** Đánh giá người bệnh để ra viện:

- Người bệnh không sốt, không cần dinh dưỡng qua đường tĩnh mạch.

- Không cần truyền tiểu cầu hay ít hơn 2 tuần/lần.

- Số lượng tuyệt đối bạch cầu trung tính (ANC) > 1G/L.

## **VI. THEO DÕI**

- Theo dõi diễn biến của các dấu hiệu sinh tồn, lượng khí trong máu lúc ghép hoặc thu thập tế bào gốc máu ngoại vi.

- Theo dõi lâm sàng và xét nghiệm sau ghép cho đến khi tủy đã mọc trong cơ thể người bệnh.

## **VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Các biến chứng sớm**

- Nhiễm trùng: vi khuẩn, vi rút (BK, CMV và EBV tái hoạt động trở lại), nhiễm nấm;
- Viêm bàng quang chảy máu;
- Hội chứng mọc mảnh ghép;
- Ghép chống chủ cấp tính;
- Thải ghép;
- Tái phát.

## **2. Các biến chứng muộn**

- Ghép chống chủ mạn tính;
- Giảm tiểu cầu: do phá huỷ ở ngoại vi hay do tủy bị ức chế;
- TTP hay HUS: hay liên quan thuốc ức chế MD như CSA;
- Suy thận: lưu ý do thuốc, TTP;
- Biến chứng thần kinh: hội chứng PRES (do CSA);
- Viêm BQ chảy máu: do Cyclo, BK và Adeno VR;
- Tăng sinh lympho do EBV hoạt động trở lại.

## **TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. **Childs R, (2005)**, “Protocol title: Non-myeloablative Allogeneic Peripheral Blood Mobilized hematopoietic Precursor Cell Transplantation for Benign Hematological Disorders and solid Tumors. American Society of Hematology Education Program Book”, *Hematology*: 372-397.
2. **Cho BS, KS Eom, YJ Kim, HJ Kim, S Lee, CK Min, SG Cho, WS Min, CW Park, CC Kim and JW Lee (2010)**, “HLA-matched sibling transplantation with BM and CD34+-purified PBSCs in adult patients with high-risk severe aplastic anemia to overcome graft rejection without an increase in GVHD”, *Bone Marrow Transplantation*, 45, 1497-1501.(2).
3. **Islam MS, Anoop P, Datta P. (2010)**, “ Implications of CD34+ cell dose on clinical and haematological outcome of allo-SCT for acquired aplastic anaemia”, *Bone Marrow Transplantation (2010)* 45, 886–894.

**BỘ Y TẾ**

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

Số: 320 /QĐ-BYT

*Hà Nội, ngày 23 tháng 01 năm 2014*

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

**BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ**

Căn cứ Luật khám bệnh, chữa bệnh năm 2009;

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

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

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

**QUYẾT ĐỊNH:**

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

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

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

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

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

***Nơi nhận:***

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

**KT. BỘ TRƯỞNG**  
**THỨ TRƯỞNG**  
**Đã ký**

**Nguyễn Thị Xuyên**

**DANH MỤC QUY TRÌNH KỸ THUẬT CHUYÊN NGÀNH HÓA SINH**

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

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

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

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

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

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



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

(Tổng số 220 quy trình kỹ thuật)

**KT. BỘ TRƯỞNG  
THỨ TRƯỞNG**

**Nguyễn Thị Xuyên**

# MỤC LỤC

## A. MÁU

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

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

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

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

A2)

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

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

## **B NƯỚC TIỂU**

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



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

# **A. MÁU**

## **1. ĐO HOẠT ĐỘ ACP**

**(Phosphatase acid)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

Huyết thanh, không dùng huyết tương.

## **2. Tiễn hành kỹ thuật**

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

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

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Giá trị tham chiếu**

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

### **2. Ý nghĩa lâm sàng**

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

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.**

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

## **2. ĐỊNH LƯỢNG ACTH MÁU**

### **(Adrenocorticotrophic hormone)**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

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

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

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

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

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

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

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

#### **II. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

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

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

###### **2.1. Phương tiện**

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

- Máy ly tâm

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

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

## **2.2.Hóa chất**

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

Thuốc thử được bảo quản ở nhiệt độ 2- 8<sup>0</sup>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<sup>0</sup>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

## **3. Người bệnh**

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

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

## **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Mẫu máu được lấy vào ống chống đông EDTA. Mẫu được để vào khay đá, chuyển xuống PXN ngay. Khi tách huyết tương sử dụng ly tâm lạnh. Mẫu cần được phân tích ngay. Có thể ổn định 2h ở 22°C. Nếu không phải lưu giữ ở nhiệt độ -20°C (chỉ được để đông 1 lần)

Đảm bảo mẫu người bệnh, dung dịch chuẩn và QC phải ở nhiệt độ từ 22-25°C trước khi phân tích

## 2. Tiến hành kỹ thuật

### 2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

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

### 2.2. Phân tích mẫu

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

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

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

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

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

Buổi chiều: < 11 pmol/L (< 50 pg/mL)

**Hệ số chuyển đổi đơn vị:**

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

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

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

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

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

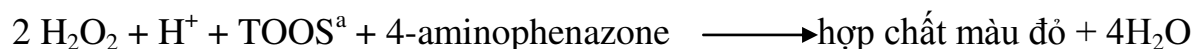
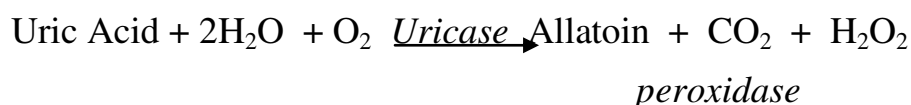
|                                                                                               |                                  |                                                                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------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

### 3. ĐỊNH LƯỢNG ACID URIC

#### I. NGUYÊN LÝ

Acid Uric là sản phẩm chuyển hóa cuối cùng của base có nitơ nhân purin

Acid Uric máu được định lượng theo phương pháp enzyme so màu



Sản phẩm màu được đo ở bước sóng 546nm.

#### II. CHUẨN BỊ

##### 1. Người thực hiện

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

##### 2. Phương tiện, hóa chất

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

R 1: buffer, TOOS ...

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

Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>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<sup>0</sup>C trong vòng 5 ngày, ở - 20<sup>0</sup>C được 6 tháng. Rã đông một lần.



Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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 – 416  $\mu\text{mol/l}$
- Nữ: 143 – 399  $\mu\text{mol/l}$

- Acid uric máu tăng trong:

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

- Acid uric máu giảm trong:

- Bệnh Willson
- Con liệt chu kỳ
- Xanthin niệu

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

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

## **4. ĐỊNH LƯỢNG ADH**

### **(Anti Diuretic Hormone)**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

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

#### **II. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

###### **2.1 Vật liệu tự chuẩn bị**

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

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

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

Điều kiện bảo quản : 2-8°C

##### **3. Người bệnh**

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

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

Xét nghiệm được tiến hành trên huyết tương

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

#### **2. Tiến hành kỹ thuật ADH ELISA**

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

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

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

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

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

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

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

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

## **5. ĐỊNH LƯỢNG ADIPONECTIN**

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

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

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

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

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

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

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

### **3. Người bệnh**

Người bệnh không cần nhịn đói hay yêu cầu gì.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

- Huyết tương:

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

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

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

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

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

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

- Huyết thanh:

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

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

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

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

### **2.1. Chuẩn bị thuốc thử**

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

#### **2.1.1. Dung dịch rửa:**

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

Sau khi pha, ổn định 3 ngày ở nhiệt độ phòng, 2 tuần ở  $8^{\circ}\text{C}$

#### **2.1.2. Chuẩn:**

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

#### **c. Biotin-kháng thể và HRP-Avidin**

Vortex đều, nhẹ nhàng trước khi dùng.

### **2.2. Tiến hành**

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

Các bước tiến hành như sau:

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

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham khảo:

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

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

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

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

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

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Có một số sai sót thường gặp:

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



## 6. ĐỊNH LƯỢNG ALDOSTEROL

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

### I. NGUYÊN LÝ

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

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Người thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

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

##### 2.1. Các chất được cung cấp

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

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

- Aldosteron Chất chuẩn-Có sẵn:

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

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

- + Lưu trữ: 2 – 8C
- + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì. Khi mở ra thì phải dùng trong vòng 14 ngày hoặc lưu trữ đông lạnh. Tránh đông và rã đông nhiều lần
- Chất chứng: Có sẵn:
  - + Thành phần: 02 lọ chứa Aldosterone trong dung dịch đệm gốc protein không chứa thủy ngân. Tham khảo nhãn lọ để biết giới hạn sử dụng
  - + Thể tích: 0.5 mL/lọ
  - + Lưu trữ: 2-8<sup>0</sup>C
  - + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì. Khi mở ra thì phải dùng trong vòng 14 ngày hoặc lưu trữ đông lạnh. Tránh đông và rã đông nhiều lần
- Wash Buffer Concentrate – X10:
  - + Thành phần: 01 chai chứa dung dịch đệm không thủy ngân và chứa chất tẩy non-ionic.
  - + Thể tích: 50 mL/chai
  - + Lưu trữ: 2-8<sup>0</sup>C
  - + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì.
  - + Chuẩn bị: Pha loãng 1:10 trong nước cất hoặc nước khử Ion. Nếu dùng hết đĩa thì pha 50ml trong 450ml nước
- Assay Buffer – Có sẵn:

- + Thành phần: 01 lọ chứa dung dịch đệm gốc protein không thủy ngân.
- + Thể tích: 15 ml/lọ
- + Lưu trữ: 2-8<sup>0</sup>C
- + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì.
- Đệm TMB – Có sẵn:
  - + Thành phần: 01 chai chứa Tetramethylbenzidine và Hydrogen Peroxide trong Non-DMF hoặc DMSO chứa dd đệm.
  - + Thể tích: 16 ml/chai
  - + Lưu trữ: 2-8<sup>0</sup>C
  - + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì.
- Dung dịch ngừng – Có sẵn:
  - + Thành phần: 01 chai chứa 1M Sulfuric Acid.
  - + Thể tích: 6 ml/chai
  - + Lưu trữ: 2-8<sup>0</sup>C
  - + Ổn định: 12 tháng hoặc xem hướng dẫn trên bao bì.

### 3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm:

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

### 4. Phiếu xét nghiệm

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

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

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

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

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

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

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

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

##### 1. Lưu ý và cảnh báo

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

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

## **2. Hạn chế**

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

## 7. ĐỊNH LƯỢNG ALBUMIN

### I. NGUYÊN LÝ

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

pH= 4.1

Albumin + BCG  $\Rightarrow$  Albumin BCG complex

(BCG: Bromocresol green)

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

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

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

#### 2. Phương tiện, hóa chất

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

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

#### 3. Người bệnh

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

#### 4. Phiếu xét nghiệm

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

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

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

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

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

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

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

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

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

## 8. ĐỊNH LƯỢNG ALPHA 1 ANTITRYPSIN

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

### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng AAT bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Bệnh phẩm được cho thêm thuốc thử 1, sau đó cho thêm thuốc thử 2 (có chứa kháng thể kháng Alpha1 Antitrypsin. Lúc này xảy ra phản ứng kết hợp giữa kháng thể và kháng nguyên có trong mẫu bệnh phẩm, tạo thành phức hợp ngưng kết. Có thể xác định được độ đục từ đó xác định được nồng độ Alpha1 Antitrypsin thông qua đường chuẩn.

### II. CHUẨN BỊ

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

2. **Phương tiện**

**2.1. Phương tiện**

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

**2.2. Hóa chất**

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

**2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm



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

### 3. Người bệnh

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

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

### 4. Phiếu xét nghiệm

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

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

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

Mẫu có thể ổn định:

7 ngày / nhiệt độ 20-25°C

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

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### 2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

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

#### 2.2. Phân tích mẫu

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

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

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

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

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

**Hệ số chuyển đổi:**

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

mg/dL x 0,01 = g/L

g/L x 100 = mg/dL

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

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

Yếu tố dạng thấp > 100 IU/mL

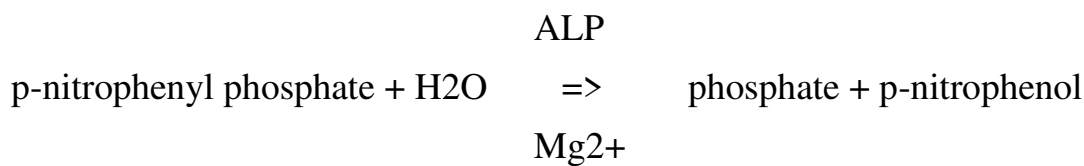
Xử trí: khi lấy mẫu tránh gây vỡ hồng cầu. Khi chuẩn bị thấy mẫu máu bị vỡ hồng cầu nên loại và lấy mẫu máu khác.

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

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

### I. NGUYÊN LÝ

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



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

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

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

#### 2. Phương tiện, hóa chất

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

#### 3. Người bệnh

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

#### 4. Phiếu xét nghiệm

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

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay  $\text{NH}_4$ -heparin. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 2 tháng ở -15°C đến -25°C.

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ Trị số bình thường:

Nam: 40 – 129 U/L.

Nữ: 35 – 104 U/L.

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

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

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

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

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

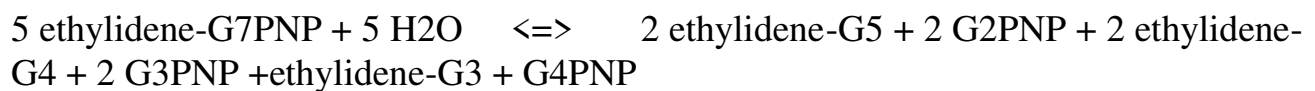
## 10. ĐO HOẠT ĐỘ AMYLASE

### I. NGUYÊN LÝ

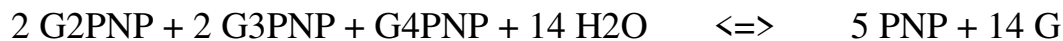
Amylase là enzyme thủy phân tinh bột, có nguồn gốc từ tụy và tuyến nước bọt. Xét nghiệm amylase thường được chỉ định trong bệnh lý tuyến tụy hoặc tuyến nước bọt...

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

$\alpha$ -amylase



$\alpha$ -glucosidase



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

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

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

#### 2. Phương tiện, hóa chất

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

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm  $\alpha$  Amylase, chất chuẩn  $\alpha$  Amylase, chất kiểm tra chất lượng  $\alpha$  Amylase.

#### 3. Người bệnh

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

#### 4. Phiếu xét nghiệm

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

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH<sub>4</sub>-heparin hoặc EDTA (nếu dùng EDTA, kết quả thấp hơn 5-10% so với huyết thanh). Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 1 tháng ở 2–8°C, 7 ngày ở 20°C đến 25°C .

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

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

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

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ Trị số bình thường: < 100 U/L

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

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

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

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

- Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.

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

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

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

## 11. ĐỊNH LƯỢNG AMONIAC

Trong điều kiện bình thường Amoniac được chuyển đổi thành ure tại gan và sau đó được thận bài xuất. Nếu có một rối loạn thực thể ngăn không cho quá trình chuyển đổi nói trên xảy ra,  $\text{NH}_3$  sẽ tích tụ trong dòng tuần hoàn. Khi tích tụ trong máu với nồng độ cao sẽ gây ra một tình trạng bệnh não gan.

### I. NGUYÊN LÝ

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



Lượng  $\text{NADPH}_2$  bị oxy hóa trong giai đoạn phản ứng sẽ tương đương với lượng  $\text{NH}_3$  có trong mẫu bệnh phẩm. Có thể đo được sự giảm mật độ quang học do NADPH chuyển thành NADP ở bước sóng vùng tử ngoại

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

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

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

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

##### 2.2. Hóa chất

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

$\alpha$ -ketoglutarate: 16.6 mmol/L; ADP:  $\geq 1.2$  mmol/L; chất bảo quản

R2 NADPH:  $\geq 458$   $\mu\text{mol/L}$ ; GLDH:  $\geq 24.3$  U/mL (EC 1.4.1.3; bovine liver; 25°C); triethanolamine buffer: 151 mmol/L, pH 8.6;

$\alpha$ -ketoglutarate: 16.6 mmol/L; ADP:  $\geq 1.2$  mmol/L; chất bảo quản.

(tham khảo theo hoá chất của Roche diagnostic)

##### 2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm



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

### 3. Người bệnh

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

### 4. Phiếu xét nghiệm

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

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

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

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### 2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn: dựa trên 2 điểm

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

#### 2.2. Phân tích mẫu

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

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

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

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### Trị số tham khảo:

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

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

**+ Tăng  $\text{NH}_3$  máu:** Xơ gan, hội chứng tăng nitơ máu, Xuất huyết tiêu hóa, Suy tim,

Suy gan, Leucemie, Bệnh lý tan máu ở trẻ sơ sinh, Viêm màng ngoài tim  
+ **Giảm NH<sub>3</sub> máu**: Tăng huyết áp vô căn; Tăng huyết áp ác tính

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Các yếu tố ảnh hưởng**

- Hút thuốc lá; Hoạt động thể lực với cường độ cao
- Chế độ ăn có nhiều hoặc quá ít đạm (protein)
- Bilirubin liên hợp > 1026  $\mu\text{mol/L}$  (>60 mg/dL).
- Hiện tượng huyết tán: khi Hb > 31  $\mu\text{mol/L}$  (>50 mg/dL).
- Các thuốc làm tăng NH<sub>3</sub>: Heparin, thuốc lợi tiểu (furosemid)
- Các thuốc làm giảm NH<sub>3</sub>: Neomycin, tetracyclin, diphenyl hydramin

### **2. Xử trí**

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

## **12. ĐỊNH LƯỢNG AMH GEN II**

### **(Anti Mullerian Hormon)**

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

#### **I. NGUYÊN LÝ**

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

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

#### **II. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

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

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

+ Dung dịch đệm

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

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

+ AMH Gen II Calibrator và Control A79766

+ Pipet chính xác loại 10-1000  $\mu$ l

+ Các tube

+ Đầu côn pipet dùng một lần

+ Máy lắc, tốc độ 600-800 vòng/phút

+ Máy trộn kiểu votex

+ Vải thấm hút

+ Nước khử ion

### **3. Người bệnh**

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

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

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

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

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

### **2.1 Chuẩn bị mẫu**

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

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

### **2.2. Chuẩn bị thuốc thử:**

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

#### **2.1.1. Dung dịch rửa:**

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

#### **2.1.2. Giếng:**

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

#### **2.1.3. Chuẩn:**

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

#### **2.1.4. Chất chứng:**

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

#### **2.1.5. Tiến hành**

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

Các bước tiến hành như sau:

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Đối với phụ nữ**

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

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

## **2. Đối với bé trai**

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

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Có một số sai sót thường gặp:

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

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

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

## **I. NGUYÊN LÝ**

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

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

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

### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

### **3. Người bệnh**

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

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



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

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

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

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

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ Trị số bình thường: <17 U/ml

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

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

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

- Tán huyết: Hemoglobin <0.5 g/dl.

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

- RF < 1500 IU/mL

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

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

## **14. ĐỊNH LƯỢNG ANTI-TG**

(Anti thyroglobulin)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Anti-TG là kháng thể kháng TG. Xét nghiệm Anti-TG thường được chỉ định trong một số bệnh về tuyến giáp như: viêm tuyến giáp Hashimoto, 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 K<sub>2</sub>,K<sub>3</sub>-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. - Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

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

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường:  $< 115 \text{ IU/mL}$
- 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  $< 66 \text{ mg/dL}$ .
  - + Tán huyết: Hemoglobin  $< 1.69 \text{ g/dl}$ .
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride  $< 2000 \text{ mg/dl}$ .
  - + Biotin  $< 60 \text{ ng/ml}$ . trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều  $> 5 \text{ mg/ngày}$  cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
  - + RF  $< 300 \text{ IU/mL}$
  - + Nồng độ TG  $> 2000 \text{ ng/mL}$  có thể dẫn tới sự tăng giả Anti-TG, trường hợp này kết quả Anti-TG không nên ghi nhận.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

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

### **I. NGUYÊN LÝ**

Anti-TPO là kháng thể kháng TPO. Xét nghiệm Anti-TPO thường được chỉ định trong Viêm tuyến giáp Hashimoto. 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<sub>4</sub>Li, Na-Heparin và K<sub>3</sub>-EDTA, Natri Citrat, Na fluoride, K Oxalate. Máu không vỡ hồng cầu.

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

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

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

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: <34 IU/mL
- Anti-TPO máu tăng trong: Viêm tuyến giáp 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).

### **16. ĐỊNH LƯỢNG APO A1**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

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

#### **II. CHUẨN BỊ**

## 1. Người thực hiện

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

## 2. Phương tiện, hóa chất

### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

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

### 2.2. Hóa chất

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

Hóa chất được bảo quản ở  $2 - 8^{\circ}\text{C}$ . Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

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

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

## III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

2 ml huyết thanh

Huyết thanh ổn định trong vòng 8 ngày ở nhiệt độ  $2-8^{\circ}\text{C}$ , 1 ngày ở nhiệt độ  $15-25^{\circ}\text{C}$

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

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

#### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

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

- Tiến hành chuẩn Apo A1.

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

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

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

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

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### 1. Trị số bình thường

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

## **2. Apo A1 giảm**

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

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Trước phân tích**

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

### **2. Trong phân tích**

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

### **3. Sau phân tích**

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



## 17. ĐỊNH LƯỢNG APO B

### I. NGUYÊN LÝ

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

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

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

#### 2. Phương tiện, hóa chất:

##### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

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

##### 2.2. Hóa chất

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

Hóa chất được bảo quản ở  $2 - 8^{\circ}\text{C}$ . Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Cần được giải thích về mục đích của xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

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

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

2 ml huyết thanh

Huyết thanh; ổn định trong vòng 8 ngày ở nhiệt độ  $2 - 8^{\circ}\text{C}$ , 1 ngày ở nhiệt độ  $15 - 25^{\circ}\text{C}$ .

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

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

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

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

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

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Trị số bình thường**

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

##### **2. Apo B tăng**

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

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

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

##### **2. Trong phân tích**

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

##### **3. Sau phân tích**

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

## **18. ĐỊNH LƯỢNG AFP ( Alpha fetoprotein)**

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

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành 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:  $< 7.0 \text{ ng/ml}$
- 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  $\beta\text{HCG}$  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  $< 65 \text{ mg/dL}$  hay  $1112 \mu\text{mol/L}$ .
  - + Tán huyết: Hemoglobin  $< 2.2 \text{ g/dl}$ .
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride  $< 1500 \text{ mg/dl}$ .
  - + Biotin  $< 60 \text{ ng/ml}$ . trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều  $> 5 \text{ mg/ngày}$  cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
  - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ AFP tới  $1\,210\,000 \text{ ng/mL}$
  - + RF  $< 1500 \text{ IU/mL}$ .
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 19. ĐO HOẠT ĐỘ ALT

### (Alanin transaminase)

ALT còn được gọi là GPT (Glutamat pyruvat transaminase)

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

#### I. NGUYÊN LÝ

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



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

#### II. CHUẨN BỊ

##### 1. Người thực hiện

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

##### 2. Phương tiện, hóa chất

###### 2.1. Phương tiện

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

- Máy ly tâm

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

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

- 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 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 ALP được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.
- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Trị số bình thường**

- Nam: < 41 U/L.

- Nữ: <31 U/L.

## 2. ALT máu tăng trong

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

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

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

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

+ Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán

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

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

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

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

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

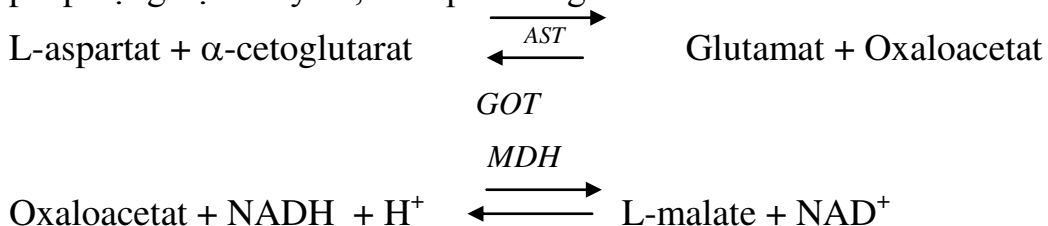
## 20. ĐO HOẠT ĐỘ AST (Aspartat transaminase)

AST còn được gọi là GOT (Glutamat oxaloacetat transaminase)

## I. NGUYÊN LÝ

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

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



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

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

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

### 2. Phương tiện, hóa chất

#### 2.1. Phương tiện

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

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

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

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

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

**Trị số bình thường:**

- Nam: < 37 U/L.
- Nữ: < 31 U/L .

- **AST máu tăng trong các nguyên nhân:**

- Các bệnh gan (tỉ số AST/ALT <1): viêm gan do virus cấp, viêm gan do thuốc (rifampicin, INH, salicylat, heparin), Viêm gan nhiễm độc (CCl<sub>4</sub>, amanit phalloid), tắc mật do các nguyên nhân không phải ung thư, apxe gan.

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

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

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

## VII. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

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

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

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

## **21. ĐỊNH LƯỢNG $\alpha$ 1 ACID GLYCOPROTEIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

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

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

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

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

### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm  $\alpha$ 1 Acid glycoprotein, chất chuẩn  $\alpha$ 1 Acid glycoprotein, chất kiểm tra chất lượng  $\alpha$ 1 Acid glycoprotein.

### **3. Người bệnh**

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

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

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

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

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Trị số bình thường: 50 – 120 mg/dL

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

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi:
  - + Huyết thanh vàng : Bilirubin <1026  $\mu$ mol/L
  - + Huyết thanh đục: Triglycerid < 750 mg/dL
  - + Vỡ hồng cầu: Hb <1000 mg/dL
  - + Yếu tố thấp < 2000 IU/mL
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **22. ĐỊNH LƯỢNG $\beta$ 2 MICROGLOBULIN**

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

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

## **I. NGUYÊN LÝ**

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

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

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

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

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

- Máy ly tâm

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

- Pipet các loại, ống sample cup

- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng

- Giá đựng ống nghiệm

#### **2.2. Hóa chất**

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

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

a) TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethane

- Dung dịch chuẩn

- Dung dịch QC ( 2 mức )

#### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm

- Găng tay

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

### 3. Người bệnh

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

### 4. Phiếu xét nghiệm

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

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

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

Mẫu có thể ổn định :

3 ngày/ nhiệt độ: 2–8°C

6 tháng/ nhiệt độ: (-15)–(-25)°C

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

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### 2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

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

#### 2.2. Phân tích mẫu

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

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

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

## III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

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

- Nồng độ  $\beta$  2 microglobulin có thể tăng: bệnh suy thận, leucemie mạn, Waldenstrom, Kahler, Lupus ban đỏ, viêm gan tiến triển

- **Hệ số chuyển đổi:**

mg/L x 84,7= nmol/L

mg/L = $\mu$ g/mL,

## IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

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

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

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

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

- Xử trí:

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

## **23. ĐỊNH LƯỢNG BETA CROSSLAP ( $\beta$ - CT<sub>x</sub> )**

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



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

## **I. NGUYÊN LÝ**

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

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

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

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

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

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

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

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Các máy có thể phân tích: Elecsys 1010, 2010, modular analytics e 170, cobas e 411, e 601 và một số máy khác phân tích miễn dịch khác.
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, ống sample cup
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

## **2.2.Hóa chất**

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

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

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

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

+ Procell

+ Clean cell

+ Dung dịch chuẩn

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

- Thuốc thử được bảo quản ở nhiệt độ 2-8<sup>0</sup>C ổn định đến thời hạn ghi trên hộp.

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

## **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm

- Găng tay, dây garo

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

## **3. Người bệnh**

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

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

## **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Có thể dùng: Huyết thanh

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

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

## 2. Tiến hành kỹ thuật

### 2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

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

### 2.2. Phân tích mẫu

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

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### Trị số tham khảo:

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

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

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

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

## **24. ĐỊNH LƯỢNG BETA HCG**

**(beta human chorionic gonadotropin)**

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

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

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

### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C 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, băng tay ...

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

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C trong vòng 3 ngày, ở -20<sup>0</sup>C được 12 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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 miễn cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông

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

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

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

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

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

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

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

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

### I. NGUYÊN LÝ

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



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

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

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

### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

### **3. Người bệnh**

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin hay EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. Bảo quản bệnh phẩm tránh ánh sáng. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 2 ngày ở 15-25°C, 6 tháng ở -15°C đến -25°C.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

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

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

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

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

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

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



## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

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

### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

### **3. Người bệnh**

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin hay EDTA. Máu không vỡ hồng cầu. Bảo quản bệnh phẩm tránh ánh sáng. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 2 ngày ở 15 - 25°C, 6 tháng ở -15°C đến -25°C .
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm ở 4000 vòng trong 5 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

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

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

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

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

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

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

Acid

Bilirubin + diazonium ion => azobilirubin

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

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

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

### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

### **3. Người bệnh**

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

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

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

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

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

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

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

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

## **28. ĐỊNH LƯỢNG BNP**

**(BNP: B- Type Natriuretic Peptide)**

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

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

## **I. NGUYÊN LÝ**

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

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

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

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

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

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1 Phương tiện**

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

#### **2.2 Hóa chất**

Các hóa chất cần thiết bao gồm:

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

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

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

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

PRE-TRIGGER SOLUTION có chứa 1.32% hydrogen peroxide.

TRIGGER SOLUTION: có chứa 0.35N sodium hydroxide.

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

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

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

### **3. Người bệnh**

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

Nên sử dụng ống nghiệm đựng mẫu là plastic

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

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

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

Dựng đường chuẩn

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

#### **2.2. Phân tích mẫu**

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

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

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và vận hành máy theo protocol.  
Máy sẽ tiến hành phân tích

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

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

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

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

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

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

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

- Xử trí:

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

## 29. ĐỊNH LƯỢNG CALCI TOÀN PHẦN

### I. NGUYÊN LÝ

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

Calcium máu được định lượng theo phương pháp so màu

*pH kiềm*

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

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

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

### 2. Phương tiện, hóa chất

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

R 1: CAPS, NaOH ...

R 2: o-CPC...

Bảo quản ở 15-25<sup>0</sup>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 ...

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

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

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm: bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng Li-heparin. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C trong vòng 3 tuần, ở - 20<sup>0</sup>C được 8 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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: 2.15-2.55 mmol/l
- Ca máu tăng trong:
  - Cường cận giáp.
  - Dùng nhiều Vitamin D.
  - Đa u tuỷ xương.
  - Bệnh Addison.
  - Ung thư (xương, vú, phế quản...).
- Ca máu giảm trong:
  - Nhược cận giáp.
  - Thiếu Vitamin D.
  - Viêm thận, thận hư.
  - Viêm tụy
  - Còi xương.

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

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

## **30. ĐỊNH LƯỢNG CANXI ION HÓA**

**(Phương pháp tính toán)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

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

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là  $\text{NH}_4\text{Li}$ , Na-Heparin không sử dụng EDTA, Citrat, Oxalate cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.

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

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- 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.
- Kết quả có thể được máy tự động tính toán nếu máy được cài đặt công thức tính toán. Ngoài ra có thể tính toán theo công thức:

Canxi ion hóa = Canxi toàn phần – (Protein toàn phần  $\times$  0.017)

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

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

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

## **31. ĐỊNH LƯỢNG CANXI ION HÓA**

### **(Phương pháp điện cực chọn lọc)**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

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

#### **II. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

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

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

- + Phương tiện: Máy xét nghiệm chất điện giải có vị trí gắn điện cực  $\text{Ca}^{++}$ ...
- + Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm  $\text{Ca}$  ion, chất chuẩn  $\text{Ca}$  ion, chất kiểm tra chất lượng  $\text{Ca}$  ion.

##### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, người bệnh cần được chuẩn bị nhịn ăn ít nhất 10 giờ trước khi lấy máu, người bệnh tránh căng thẳng 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  $\text{NH}_4$ , Li, Na-Heparin không sử dụng EDTA, Citrat, Oxalate cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

##### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được chuẩn với xét nghiệm  $\text{Ca}^{++}$ . Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm  $\text{Ca}^{++}$  đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

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

## **32. ĐỊNH LƯỢNG CA 125 (Cancer antigen 125)**

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

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH<sub>4</sub>-Heparin và K<sub>3</sub>-EDTA và Sodium Citrat. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

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

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

+ RF <1200 IU/mL

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



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

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

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

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH<sub>4</sub>-Heparin và K<sub>3</sub>-EDTA. Không sử dụng chất chống đông Sodium Citrat cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

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

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.

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

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CA 19-9 tới 500 000 U/mL

+ RF <1500 IU/mL

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

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

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

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

### **II. CHUẨN BỊ**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

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

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH<sub>4</sub>-Heparin và K<sub>3</sub>-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 5 ngày ở 2–8°C, 1 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CA 15-3. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CA 15-3. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CA 15-3 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường:  $< 25 \text{ U/ml}$ .
- CA 15-3 máu tăng trong: CA 15-3 tăng cao trong ung thư vú, phổi, buồng trứng, tiền liệt tuyến... và có giá trị nhất trong việc chẩn đoán ung thư vú. CA 15-3 phối hợp với CEA làm tăng giá trị khi chẩn đoán ung thư vú. CA 15-3 còn tăng nhẹ trong bệnh xơ gan, viêm gan, bệnh vú lành tính. CA 15-3 phối hợp với CEA và CA 72-4 làm tăng giá khi chẩn đoán

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin  $< 65 \text{ mg/dL}$  .
  - + Tán huyết: Hemoglobin  $< 3.0 \text{ g/dl}$ .
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride  $< 1500 \text{ mg/dl}$ .
  - + Biotin  $< 100 \text{ ng/ml}$ . trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều  $> 5 \text{ mg/ngày}$  cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
  - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CA 15-3 tới  $20\,000 \text{ U/mL}$
  - + RF  $< 1500 \text{ IU/mL}$

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

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

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

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH<sub>4</sub>-Heparin và K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 30 ngày ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C.

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

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

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: <6.9 U/ml.

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

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

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

+ Tán huyết: Hemoglobin < 2.2 g/dl.

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

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

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

+ RF <1500 IU/mL

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

## 36. ĐỊNH LƯỢNG CALCITONIN

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

### I. NGUYÊN LÝ

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

### II. CHUẨN BỊ

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

#### 2. **Phương tiện, hóa chất**

##### 2.1. *Phương tiện*

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

##### 2.2. *Hóa chất*

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

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



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

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

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

### **3. Người bệnh**

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

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

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

Dựng đường chuẩn

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

#### **2.2. Phân tích mẫu**

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

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

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- **Trị số tham khảo:**

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

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

Nữ: 5,0 pg/mL (1,46 pmol/L)

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

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

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

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

Bilirubin > 200 mg/dL

Hemoglobin > 512 mg/dL

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

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

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

## **37. ĐỊNH LƯỢNG CARBAMAZEPIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

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

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

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

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

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

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

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

- Liều điều trị thường có nồng độ ở mức 4-12 µg/mL. Tuy nhiên nồng độ này còn phụ thuộc vào từng cá thể.

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

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

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

- Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dl.

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

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

## **38. ĐỊNH LƯỢNG CERULOPLASMIN**

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

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

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

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 20 - 60 mg/dl

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

- Ceruloplasmin máu giảm trong: Bệnh Willson, Bệnh Menkes

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

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

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL hoặc 621  $\mu$ mol/L.

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

+ Yếu tố dạng thấp: < 76 IU/mL.

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

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

## **39. ĐỊNH LƯỢNG CEA (Carcinoembryonic antigen)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

### **II. CHUẨN BỊ**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

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

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường:

Người không hút thuốc lá : < 3.4 ng/mL

Người hút thuốc lá : < 4.3 ng/mL

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

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL .
- + Tán huyết: Hemoglobin < 2.2 g/dl.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
- + Biotin < 120 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8 giờ sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
- + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CEA tới 200 000 ng/mL.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).



## 40. ĐO HOẠT ĐỘ CHOLINESTERASE (EC 3.1.1.8)

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

### I. NGUYÊN LÝ

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



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

### II. CHUẨN BỊ

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

2. **Phương tiện**

2.1 **Phương tiện**

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

2.2 **Hóa chất**

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

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

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

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

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm

- Găng tay

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

### **3. Người bệnh**

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

Huyết thanh

Huyết tương: chất chống đông Li-Heparin, EDTA

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

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

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

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

#### **2.2. Phân tích mẫu**

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

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ *Trị số tham khảo:*

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

**+Hoạt độ ChE giảm:**

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

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

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

## 41. ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN

### I. NGUYÊN LÝ

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

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



*CE: Cholesterolesterase*

*CHOD: Cholesterol oxidase*

*POP: Peroxidas*

### II. CHUẨN BỊ

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

2. **Phương tiện, hóa chất**

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

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

Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>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, cùn, găng tay ...

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

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

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. **Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng Li-heparin. Không sử dụng citrate, oxalate, fluorid. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C trong vòng 7 ngày, ở - 20<sup>0</sup>C được 3 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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.

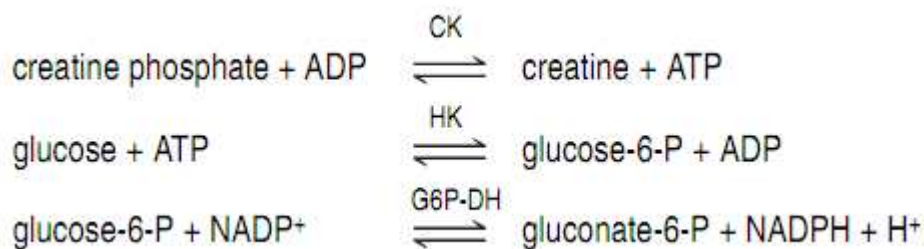
| Nguyên nhân                                             | Sai sót                    | Xử trí              |
|---------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------|
| Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, đang sử dụng thuốc | Kết quả ảnh hưởng không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

## 42. ĐỊNH LƯỢNG CREATINE KINASE (CK)

### I. NGUYÊN LÝ

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

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



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

### II. CHUẨN BỊ

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

#### 2.1. Trang thiết bị

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

#### 2.2. Hóa chất

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

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

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

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

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

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

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

### **3. Người bệnh**

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

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

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

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

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

#### **2.2. Phân tích mẫu**

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

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

**Trị số tham khảo:**

Nam: 38-174 U/L-37°C

Nữ: 26 - 140 U/L- 37<sup>0</sup>C

**Hệ số chuyển đổi:**

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

**Hoạt độ CK (CPK) toàn phần tăng:**

Bệnh tai biến mạch não cấp

Nhồi máu cơ tim

Chấn thương não, đụng giập cơ

Sau phẫu thuật tim

Viêm da và cơ; Viêm cơ, Tiêu cơ vân

Nhồi máu phổi

**Hoạt độ CK (CPK) toàn phần giảm:**

Bệnh addison

Giảm khối lượng cơ

Bệnh lý gan

Giảm tiết của thùy trước tuyến yên

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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



## **43. ĐO HOẠT ĐỘ ISOENZYM CK-MB**

### **I. NGUYÊN LÝ**

CK được cấu tạo bởi 2 tiểu đơn vị là B (Brain - não) và M (Cơ - Muscle) tùy theo sự tổ hợp của 2 loại B và M mà tạo nên 3 dạng isozyme của CK là CK-MM, CK-MB và CK-BB tức CK não. CK-BB do không qua được hàng rào máu não nên trong huyết thanh nó chỉ ở dạng vết. CK-MB có nhiều ở tim, trong huyết thanh chiếm tỷ lệ <6%. Xét nghiệm CK-MB thường chỉ định trong bệnh tim mạch đặc biệt là nhồi máu cơ tim.

Hoạt độ của enzym CK-MB trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp ức chế miễn dịch và động học enzym.

CK-MB bao gồm 2 tiểu phần là CK-M và CK-B. Trường hợp này để xác định hoạt độ CK-MB, tiểu phần CK-M bị ức chế bằng kháng thể kháng CK-M. Lúc này chỉ xác định hoạt độ của tiểu phần CK-B theo phản ứng như xác định hoạt độ CPK toàn phần. Hoạt độ của CK-MB là hoạt độ của CK-B được nhân 2.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH<sub>4</sub>-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).

## 44. ĐỊNH LƯỢNG CK-MB MASS

### I. NGUYÊN LÝ

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

- Giai đoạn ủ thứ nhất: gồm bệnh phẩm (huyết thanh, huyết tương), một kháng thể đơn dòng kháng CK-MB đã gắn với biotin và một kháng thể đơn dòng đặc hiệu với CK-MB được gắn với phức hợp ruthenium\* để tạo thành phức hợp kiểu sandwich.

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

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

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

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh, miễn dịch và 01 kỹ thuật viên.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: Elecsys 1010, Elecsys 2010, modular analytics e 170, cobas e 411, cobas 6000, 8000 và một số máy khác.

- Máy ly tâm

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

- Pipet các loại, ống sample cup

- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng

- Giá đựng ống nghiệm

##### 2.2. Hóa chất

Gồm 3 lọ thuốc thử

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

+ Lọ thứ 2 (R1) - nắp màu ghi, có chứa Anti-CK-MB Ab~biotin thể tích 10 mL:

Biotinylated monoclonal anti-CK-MB antibodies (mouse) 1.2 mg/L; phosphate buffer 100 mmol/L, pH 7.0; chất bảo quản.

+ Lọ thứ ba (R2) - nắp màu đen có chứa Anti-CK-MB Ab~Ru(bpy) thể tích 10 ml: Monoclonal anti-CK-MB antibodies (mouse) labeled with ruthenium complex 1.2 mg/L;

phosphate buffer 100 mmol/L, pH 7.0; chất bảo quản.

+ Procell; Clean cell

+ Dung dịch chuẩn

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

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm

- Găng tay

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

## **3. Người bệnh**

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

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

## **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Phân tích trong máu, có thể dùng: Huyết thanh hoặc Huyết tương: chất chống đông: Lithium Heparin, citrat natri.

Mẫu nên tiến hành phân tích trong vòng 2giờ

Ổn định mẫu: 4 giờ/ nhiệt độ 18-23°C; 8 giờ/ nhiệt độ 2-8°C; 3 Tháng/ nhiệt độ -20°C

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

Dựng đường chuẩn

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

## **2.2. Phân tích mẫu**

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm. Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test vận hành theo protocol máy sẽ tự động phân tích.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số tham khảo, dựa trên nghiên cứu sau: đơn vị ng/mL

|     | N   | Median      | 97%<br>bách phân vị | 99%<br>bách phân vị |
|-----|-----|-------------|---------------------|---------------------|
| Nam | 628 | <b>0.97</b> | 2.88                | 3.77                |
| Nữ  | 760 | <b>1.35</b> | 4.94                | 6.73                |

Theo FRISC II (Fragmin during instability in coronary artery disease) Study, results from Uppsala, January 1999)

- CKMB có thể tăng trong: nhồi máu cơ tim, viêm cơ tim, sau khử rung tim, suy tim ứ huyết, chấn thương tim,...

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

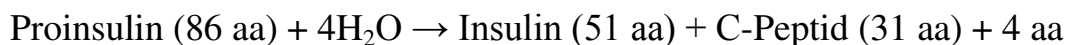
- Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi: Nồng độ bilirubin > 34 mg/dL; Hemoglobin > 1,5 g/dL; Triglycerid > 1500 mg/dL; Biotin > 100 ng/mL

- Xử trí: Khi lấy mẫu tránh vỡ hồng cầu, chuẩn bị mẫu nếu mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại và lấy mẫu khác thay thế.

Người bệnh đang dùng biotin cần dừng thuốc ít nhất 8 giờ trước thời điểm lấy mẫu máu.

## 45. ĐỊNH LƯỢNG C-PEPTID

C-Peptide là một peptide gồm 31 acid amin, do tế bào beta của đảo tụy sản sinh từ proinsulin dưới tác dụng của enzym thủy phân là Protease theo phương trình sau:



Lượng peptide và insulin do tế bào beta sản xuất và bài tiết với lượng như nhau vào tuần hoàn máu. Tuy nhiên, do C-peptide được đào thải qua thận còn insulin được đào thải chủ yếu qua gan và cũng do thời gian bán hủy của C-peptide là khoảng 30 phút và của insulin là 5 phút nên nồng độ C-peptide trong máu thường cao hơn nồng độ insulin khoảng 5 lần. Việc định lượng C-peptide trong huyết tương có thể giúp đánh giá khả năng hoạt động của các tế bào beta của tụy nội tiết.

### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng C-peptid dựa trên nguyên lý miễn dịch theo kiểu “sandwich”. Sử dụng phương pháp điện hóa phát quang (ECLIA). Tổng thời gian của phản ứng là 18 phút.

+ Lần ủ đầu tiên: Gồm mẫu bệnh phẩm (huyết thanh, huyết tương), 1 kháng thể đơn dòng đặc hiệu với c-peptid đã được gắn với biotin và 1 kháng thể đơn dòng đặc hiệu với c-peptid được gắn với phức hợp ruthenium để tạo thành phức hợp kiểu sandwich

+ Lần ủ thứ hai: sau khi cho thêm các vi hạt được bao phủ bởi streptavidin, phức hợp sẽ bám vào phase rắn qua phản ứng của biotin và streptavidin

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

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

### II. CHUẨN BỊ

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

#### 2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: Elecsys 1010, Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 411, cobas e 601 và một số máy khác

- Máy ly tâm

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

- Pipet các loại

- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng

- Giá đựng ống nghiệm

## **2.2. Hóa chất**

+ Thuốc thử 1 (M)- nắp trong, có thể tích 6.5 mL: gồm các vi hạt được bao phủ Streptavidin 0.72 mg/mL; chất bảo quản.

+ Thuốc thử 2 (R1)- nắp màu ghi, có Anti- c-peptid -Ab~biotin, thể tích 9 mL: Biotinylated monoclonal anti- c-peptid antibody (mouse) 1 mg/L; đệm phosphat 50 mmol/L, pH 6.0; chất bảo quản.

+ Thuốc thử 3 (R2) nắp màu đen, có Anti- c-peptid -Ab<sup>3</sup>-Ru(bpy), thể tích 9 mL: trong đó kháng thể kháng C-peptid được đánh dấu bởi phức hợp ruthenium: 0.4 mg/L; đệm phosphat: 50 mmol/L, pH 6.0; chất bảo quản.

+ Bảo quản thuốc thử: ở nhiệt độ 2- 8°C, có thể ổn định đến thời hạn ghi trên hộp. Thuốc thử sau khi mở nắp bảo quản được 12 tuần ở 2-8°C. Nếu để trên máy (không tắt máy) có thể được 4 tuần.

+ Procell; Clean cell

+ Dung dịch chuẩn

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

## **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm

- Găng tay, dây garo

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

## **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm  
Người bệnh cần nhịn ăn 10 giờ tính đến thời điểm lấy máu.

## **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

## 1. Lấy bệnh phẩm

- Phân tích trên mẫu máu, có thể dùng: huyết thanh hoặc huyết tương: chất chống đông Li-heparin, EDTA

- Phân tích trên mẫu nước tiểu: cần lấy mẫu nước tiểu 24 giờ

Tính ổn định của mẫu: mẫu huyết thanh, huyết tương và nước tiểu 24 giờ có thể ổn định 4 giờ /nhiệt độ 15-25°C; 24 giờ / nhiệt độ 2-8°C; 30 ngày/nhiệt độ (-20°C)

## 2. Tiến hành kỹ thuật

### 2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

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

### 2.2. Phân tích mẫu

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

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

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

## III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

**Trị số tham khảo:** dựa trên nghiên cứu sau:

|                           | N  | Median | 5 <sup>th</sup> -95 <sup>th</sup> percentile | Unit      |
|---------------------------|----|--------|----------------------------------------------|-----------|
| C-peptide in serum/plasma | 96 | 1.96   | 1.1-4.4                                      | ng/mL     |
|                           |    | 0.65   | 0.37-1.47                                    | nmol/L    |
| C-peptide in 24 h urine   | 79 | 54.8   | 17.2-181                                     | µg/24 h   |
|                           |    | 18.3   | 5.74-60.3                                    | nmol/24 h |

**Hệ số chuyển đổi:**

- $\text{ng/mL} (\mu\text{g/L}) \times 0,33333 = \text{nmol/L}$
- $\text{nmol/L} \times 3,0 = \text{ng/mL}$
- $\text{ng/mL} \times 333,33 = \text{pmol/L}$
- $\text{pmol/L} \times 0,003 = \text{ng/mL}$

### C- peptid tăng trong:

- Khối u insulin (Insulinoma)
- Sản xuất insulin nội sinh tăng: cơ thể đáp ứng với sự tăng glucose máu do ăn nhiều glucose hoặc do kháng insulin.
- Ghép tụy



**C- peptid giảm trong:** Đái tháo đường type 1, sau cắt tụy

#### **IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi: Bilirubin > 855  $\mu\text{mol/L}$  (> 50mg/dL); Hemoglobin > 0,186 mmol/L (> 0,3 g/dL), Triglycerid > 22,58 mmol/L (2000mg/dL); biotin > 246 nmol/L (> 60ng/mL); Yếu tố dạng thấp > 1200IU/mL.

- Xử trí: Khi lấy mẫu máu người bệnh cần nhịn ăn 10h tính đến thời điểm lấy máu để phân tích.

## 46. ĐỊNH LƯỢNG CORTISOL

CORTISOL là hormon chủ yếu của nhóm glucocorticoid được tiết ra bởi vỏ thượng thận. Cortisol tham gia điều hòa chuyển hóa carbohydrate, phân bố nước và điện giải. Ngoài ra còn có tác dụng ức chế miễn dịch và kháng viêm.

### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng CORTISOL bằng kỹ thuật miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm để định lượng Cortisol trong huyết thanh, huyết tương hay nước tiểu. Cortisol trong mẫu thử kết hợp với kháng thể kháng Cortisol được phủ trên vi hạt thuận từ theo phản ứng kết hợp kháng nguyên - kháng thể. Sau khi ủ, cortisol ghi dấu arcedinium cho thêm vào phản ứng, nó sẽ gắn kết cạnh tranh trên hỗn hợp kháng thể kháng cortisol đã phủ trên vi hạt thuận từ. Sau khi ủ lần hai vi hạt được rửa sạch, thêm dung dịch kích hoạt (Trigger) vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Hàm lượng Cortisol trong mẫu tương quan nghịch với RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân XN được đào tạo vận hành máy Architect

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Máy Architect ir1000
- Ống nghiệm (EDTA, sodium citrate), ống nghiệm không có chất chống đông, chai đựng nước tiểu, bơm tiêm 5ml, cồn sát trùng.

##### 2.2. Hóa chất: Bộ thuốc thử 100 / 500 Test ARCHITECT Cortisol

- CÁC VI HẠT: 1 chai (6,6 mL chai 100 test/27,0 mL chai 500 test) Các vi hạt phủ kháng thể kháng Cortisol (từ chuột, đơn dòng) trong dung dịch đệm TRIS/BIS-TRIS với chất ổn định protein (bò).
- CHẤT KẾT HỢP: 1 chai (5,9 mL chai 100 test/26,3 mL chai 500 test) Chất kết hợp Cortisol được đánh dấu acridinium trong dung dịch đệm citrat với chất ổn định surfactant.

#### 3. Người bệnh

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

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

### **III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

##### **1.1. Loại mẫu**

- Huyết thanh, Huyết tương (potassium EDTA, sodium citrate)
- Nước tiểu đựng trong chai sạch chưa sử dụng. Không đòi hỏi phải có chất bảo quản, song có thể dùng 10g acid Boric trong 1 lít nước tiểu.

##### **1.2. Điều kiện mẫu**

- Không sử dụng các mẫu sau: bị bất hoạt do nhiệt, bị tán huyết, thấy nhiễm khuẩn bằng mắt thường, mẫu lấy từ tử thi hay các dịch cơ thể khác.
- Để có kết quả xác thực: mẫu huyết thanh và huyết tương không nên có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác. Khi lấy mẫu lưu ý phải ghi rõ thời gian lấy.
- Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.

##### **1.3. Bảo quản**

- Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 8 giờ, tách huyết tương hay huyết thanh ra khỏi cục máu đông mẫu có thể được bảo quản 14 ngày ở nhiệt độ 2-8°C. Nước tiểu bảo quản 14 ngày ở nhiệt độ 2-8°C.
- Huyết thanh, huyết tương hay nước tiểu bảo quản 30 ngày đông lạnh ở  $\leq -10^{\circ}\text{C}$ .

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT Cortisol vào máy Architect.
- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.
- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy.
- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

*Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng.*

- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn (Calibrator) và mẫu kiểm tra chất lượng (Control) CORTISOL ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.
- Yêu cầu chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng Cortisol phải giữ theo chiều thẳng đứng và nhỏ 5 giọt mẫu chuẩn hay 150 $\mu\text{L}$  cho mỗi mẫu chứng vào từng cup đựng mẫu tương ứng.
- Nạp mẫu và nhấn nút RUN.

*Quy trình pha loãng mẫu*

Mẫu với giá trị Cortisol > 1620 nmol/L có thể pha loãng theo quy trình pha loãng tự động với tỷ lệ 1:2. Máy sẽ sử dụng hệ số pha loãng này để tự động tính nồng độ mẫu trước khi pha loãng và báo cáo kết quả.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Cortisol là hormon glucocorticoid chủ yếu được tiết ra bởi vỏ thượng thận. Chức năng sinh lý của Cortisol là điều hòa đường, điện giải và nước. Cortisol có tác dụng kháng viêm và ức chế miễn dịch. Nồng độ Cortisol cao nhất vào buổi sáng và giảm còn một nửa vào buổi tối. Có thai và điều trị estrogen hoặc bị stress sẽ làm tăng nồng độ Cortisol.

Định lượng Cortisol giúp đánh giá chức năng tuyến thượng thận.

##### 1. Giá trị tham khảo

\* Huyết thanh (Huyết tương)

| Thời gian         | Giá trị (µg/dL) | Giá trị (nmol/L) |
|-------------------|-----------------|------------------|
| Trước 10 giờ sáng | 3,7 – 19,4      | 101,2 – 535,7    |
| Sau 5 giờ chiều   | 2,9 – 17,3      | 79,0 – 477,8     |

##### 2. Bệnh lý

\* Tăng nồng độ Cortisol:

- U biểu mô tuyến thượng thận
- Bệnh Cushing, hội chứng Cushing
- Bỏng, sản giật, tăng huyết áp, stress

\* Giảm nồng độ Cortisol:

- Bệnh Addison
- Suy thượng thận
- Hạ đường huyết
- Suy chức năng tuyến giáp.

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu máu từ người bệnh có điều trị heparin có thể bị đông máu từng phần và sự xuất hiện của fibrin có thể dẫn đến sai số. Để tránh trường hợp này, nên lấy máu trước khi dùng liệu pháp heparin.
- Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả.

- Đối với những mẫu mới rã đông khuyến cáo chuyển mẫu sang ống ly tâm và ly tâm  $\geq 10.000$  RCF (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cup đựng mẫu để chạy xét nghiệm.
- Các mẫu xét nghiệm đã ly tâm có màng lipid ở trên cùng phải được hút vào cup chứa mẫu. Lưu ý chỉ chuyển phần dịch trong không được lẫn lipid.

## 47. ĐỊNH LƯỢNG CYSTATIN C

Cystatin C được sản xuất bởi các tế bào có nhân trong cơ thể với một mức độ không đổi và liên tục trong suốt cuộc đời. Do trọng lượng phân tử thấp nên cystatin C dễ dàng lọc qua màng lọc cầu thận. Nồng độ cystatin C trong máu có liên quan với mức lọc cầu thận. Khác với creatinin trong máu, nồng độ cystatin C trong máu không phụ thuộc vào tuổi, giới, cân nặng, chiều cao và khối cơ của người bệnh. Trong một số trường hợp, trị số creatinin huyết thanh sẽ không phản ánh sự tương thích với tình trạng người bệnh trên lâm sàng (mặc dù không có sai sót trong kỹ thuật phân tích hoá sinh), ví dụ với một người bệnh mắc bệnh thận có kèm mắc bệnh xơ gan, bệnh béo phì, người dinh dưỡng kém hoặc người có khối cơ bị giảm nhiều,... Trong những trường hợp này, cystatin C đặc biệt hữu ích giúp cho việc phát hiện sớm bệnh thận trong khi các thông số cũ như ure, creatinin, thanh thải creatinin có thể hầu như bình thường.

### I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên nguyên lý miễn dịch. Sử dụng phương pháp miễn dịch đo độ đục có tăng cường các vi hạt latex. Cystatin C trong mẫu (huyết thanh, huyết tương) sẽ kết hợp với các vi hạt latex đã được bao phủ trên bề mặt bởi lớp kháng kháng thể, tạo thành phức hợp ngưng kết miễn dịch. Tiến hành xác định độ đục của phức hợp này bằng phương pháp đo quang bước sóng 546 nm. Dựa trên đường cong chuẩn để tính được nồng độ Cystatin C cần phân tích trong mẫu đo.

### II. CHUẨN BỊ

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

2. **Phương tiện, hóa chất**

#### 2.1 *Phương tiện*

- Các máy phân tích hóa sinh tự động: Hitachi 904, 911, 912, 917, cobas 6000, 8000, AU 400, 480, 640, 680, 2700, 5800 và một số máy khác

- Máy ly tâm

- Tủ lạnh bảo quản hóa chất

- Ống nghiệm

- Pipet các loại

- Đầu côn xanh, vàng

- Giá đựng ống nghiệm

#### 2.2 *Hóa chất*

+ Thuốc thử 1 (R1): Solution of polymers in MOPS-buffered saline; Chất bảo quản.

+ Thuốc thử 2 (R2): Latex particles in glycine buffer coated with anti-cystatin C antibodies (rabbit); Chất bảo quản.

+ Bảo quản hóa chất:

Kit ổn định đến hạn ghi trên hộp thuốc thử khi bảo quản ở 2–8 °C

R1 và R2 : có thể ổn định trong 8 tuần khi mở nắp khi bảo quản trong khay đựng hóa chất của máy (không tắt máy).

+ Dung dịch chuẩn: dựng đường chuẩn dựa trên 6 mức nồng độ

+ Dung dịch QC (quality control) ở 2 mức Low và high

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm

- Găng tay

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

### **3. Người bệnh**

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

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

- Tính ổn định của mẫu: 7ngày/ nhiệt độ 2-8°C; 6 tháng/ nhiệt độ (-15) - (-25)°C. Mẫu huyết tương, huyết thanh chỉ được đông lạnh một lần, mẫu cần được trộn đều trước khi phân tích.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

Dựng đường chuẩn

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

#### **2.2. Phân tích mẫu**

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

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

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- **Trị số tham khảo:** 0.47 - 1,09 mg/L

- **Cystatin C có thể tăng trong:**

Bệnh viêm gan tiến triển

Tràn dịch màng phổi

Bệnh về khớp

Người bệnh ghép thận

Đang dùng corticoid liều cao dài ngày.

- **Cystatin C có thể giảm:** người bệnh đang dùng thuốc cyclosporin

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm: Bilirubin > 1026  $\mu\text{mol/L}$  (60mg/dL); Hemoglobin > 435  $\mu\text{mol/L}$  (700 mg/dL); Yếu tố dạng thấp > 1200IU/mL

- Xử trí: Khi lấy máu thao tác tránh vỡ hồng cầu. Khi ly tâm mẫu bị vỡ nên loại lấy mẫu máu khác.



## 48. ĐỊNH LƯỢNG BỔ THỂ C3 (Complement 3)

Cuối thế kỷ 19, người ta tìm thấy trong huyết tương những yếu tố có khả năng diệt vi khuẩn. Năm 1895, Jules Bordet chứng minh rằng yếu tố này có thể được phân tách thành 2 thành phần: thành phần ổn định với nhiệt và thành phần không ổn định với nhiệt (nó mất hiệu lực nếu huyết thanh đã được đun nóng đến 56 °C). Thành phần không ổn định với nhiệt được gọi là bổ thể. Bổ thể được đánh số từ C1 đến C9 theo trình tự tham gia phản ứng (trừ C4 là ký hiệu theo trình tự phát hiện bổ thể). Xét nghiệm C3 (complement 3) thường được chỉ định trong một số bệnh tự miễn, ung thư, xơ gan...

### I. NGUYÊN LÝ

C3 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng C3 trong thuốc thử kết hợp với C3 trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ C3 có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

### II. CHUẨN BỊ

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

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm C3, chất chuẩn C3, chất kiểm tra chất lượng C3.

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

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

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-heparin hoặc Na-heparin. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 4 ngày ở 20-25 °C, 8 ngày ở 2-8°C.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm C3. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm C3. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm C3 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 90-180 mg/dL.
- C3 máu tăng trong: Thấp khớp cấp, viêm khớp dạng thấp, Giai đoạn đầu của lupus ban đỏ, Ung thư (thực quản, dạ dày, trực tràng, tụy, phổi, vú, cổ tử cung, buồng trứng, tuyến tiền liệt, bàng quang).
- C3 máu giảm trong: Lupus ban đỏ toàn thân, Viêm cầu thận, thải loại ghép thận cấp, Xơ gan, Thiếu máu, nhiễm khuẩn huyết (gram âm), Viêm màng trong tim nhiễm khuẩn.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026  $\mu$ mol/L.
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL hoặc 621  $\mu$ mol/L.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1600 mg/dL (18.2 mmol/L).
  - + Yếu tố dạng thấp < 1200IU/mL.
  - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ C3 tới 1250 mg/dL .
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **49. ĐỊNH LƯỢNG BỔ THỂ C4 (Complement 4)**

C4 là một loại bổ thể (Complement 4) thường được chỉ định trong một số bệnh tự miễn, ung thư, xơ gan...

### **I. NGUYÊN LÝ**

C4 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng C4 trong thuốc thử kết hợp với C4 trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ C4 có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm C4, chất chuẩn C4, chất kiểm tra chất lượng C4.

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm C4. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm C4. Kết quả

kiểm tra chất lượng với xét nghiệm C4 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 10.0 – 40.0 mg/dL.
- C4 máu tăng trong: Viêm khớp dạng thấp thanh niên, Ung thư (thực quản, dạ dày, trực tràng, tụy, phổi, vú, cổ tử cung, buồng trứng, tuyến tiền liệt, bàng quang).
- C4 máu giảm trong: Lupus ban đỏ rải rác, Viêm cầu thận, Xơ gan, Viêm màng trong tim nhiễm khuẩn.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026  $\mu$ mol/L.
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 900 mg/dL hay 559  $\mu$ mol/L.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1600 mg/dL (18.2 mmol/L).
  - + Yếu tố dạng thấp < 1200 IU/mL.
  - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ C4 tới 500 mg/dL (25  $\mu$ mol/L).
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **50. ĐỊNH LƯỢNG hs-CRP (High sensitive C-reactive protein)**

C-reactive protein (CRP) là một protein pha cấp được gan sản xuất ra và phóng thích vào máu sau một vài giờ khi mô bị tổn thương, do bị nhiễm trùng, hoặc nguyên nhân khác gây ra viêm. Xét nghiệm CRP thường chỉ định trong các bệnh như các nhiễm trùng do vi khuẩn, nhồi máu cơ tim, bệnh tự miễn...

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-/Na-heparin, Na-/K3-EDTA, hay citrate. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định: 11 ngày ở 15–25°C, 2 tháng ở 2–8°C, 3 năm ở (-15)–(-25) °C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2.Tiến hành kỹ thuật**

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường:  $< 0.5 \text{ mg/dL}$ .
- 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  $< 1600 \text{ mg/dL}$  ( $18.2 \text{ mmol/L}$ ).
  - + 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  $1000 \text{ mg/L}$ .
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 51. ĐỊNH LƯỢNG CREATININ

### I. NGUYÊN LÝ

Creatinin là sản phẩm của quá trình thoái hóa creatin phosphate và creatin ở cơ. Creatinin được đào thải chủ yếu qua thận.

Creatinin máu được định lượng theo phương pháp Jaffe (đo điểm đầu và cuối)

Creatinin + acid pyric  $\xrightarrow{\text{Alkaline pH}}$  phức hợp vàng cam

### II. CHUẨN BỊ

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

2. **Phương tiện, hóa chất**

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

R 1: Potassium hydroxide, phosphat ...

R 2: acid pyric.

Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>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, cùn, găng tay ...

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

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

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. **Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA, heparin. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C trong vòng 7 ngày, ở - 20<sup>0</sup>C được 3 tháng. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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                                                                                         |



## 52. ĐỊNH LƯỢNG CYFRA 21-1

Cyfra 21-1 là các mảnh cytokeratin 19, là protein làm giá đỡ không tan của tế bào, nhưng các mảnh cytokeratin như cyfra 21-1 thì tan trong huyết thanh, trọng lượng phân tử 30.000 dalton. Xét nghiệm Cyfra 21-1 thường được chỉ định trong ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư bàng quang, buồng trứng...

CYFRA 21-1 là một mảnh của cytokeratin 19, có trọng lượng phân tử khoảng 30 000 dalton. CYFRA 21-1 được chỉ định trong theo dõi điều trị, chẩn đoán ung thư phổi không tế bào nhỏ.

### I. NGUYÊN LÝ

CYFRA 21-1 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. CYFRA 21-1 trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng cytokeratin 19 từ chuột gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng cytokeratin 19 từ chuột được đánh dấu bằng ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ CYFRA 21-1 có trong mẫu thử.

### II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 02 người là bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.
2. **Phương tiện, hóa chất**
  - Máy móc: hệ thống máy miễn dịch
  - Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích
  - Các loại dung dịch hệ thống khác
  - Chuẩn
  - Control: ba mức
  - Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...
3. **Người bệnh:** được giải thích trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng
4. **Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. **Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương

chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 4 tuần, 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.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: < 3,3 ng/mL
- Tăng cao và có giá trị nhất trong ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. Ngoài ra còn tăng cao trong ung thư bàng quang, buồng trứng, cổ tử cung.
- Sự giảm nồng độ Cyfra 21-1 cũng có giá trị theo dõi hiệu quả của phương pháp điều trị, khi được điều trị Cyfra 21-1 đang giảm lại tăng chứng tỏ có tái phát và sự tăng Cyfra 21-1 có thể sớm hơn 7 tháng so với dấu hiệu lâm sàng

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| nguyên nhân                                                              | lỗi sót                                    | xử trí                                                               |
|--------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng sodium citrate                     | Kết quả + 10%                              | Không dùng ống chống đông này                                        |
| Bệnh phẩm huyết tán, tăng bilirubin hoặc tăng lipid, đang sử dụng biotin | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm 10% | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ cyfra 21-1 > 2000 ng/mL                                          | hiệu ứng hook-effect                       | pha loãng bệnh phẩm                                                  |
| Nồng độ cyfra 21-1 > dải đo (0,1 – 500 ng/mL)                            | lỗi lệch kết quả                           | pha loãng bệnh phẩm                                                  |

## 53. ĐỊNH LƯỢNG CYCLOSPORIN

## **I. NGUYÊN LÝ**

Cyclosporin là thuốc ức chế miễn dịch chống thải ghép ở người bệnh ghép tạng.

Cyclosporin trong máu toàn phần được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh hai bước sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Cyclosporine là xét nghiệm miễn dịch hai bước để định lượng cyclosporine trong máu toàn phần: Trước khi thực hiện phân tích trên máy, bước tiền xử lý thủ công được thực hiện với mẫu máu toàn phần được ly giải với thuốc thử hòa tan, chiết tách với thuốc thử kết tủa và ly tâm.

Ở bước một, mẫu thử đã qua xử lý kết hợp với anticyclosporine đã được phủ trên các vi hạt thuận từ. Sau khi rửa, cyclosporine có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được cho vào ở bước hai để tạo hỗn hợp phản ứng.

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

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

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

### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất tiền xử lý và tách chiết Cyclosporin. Hóa chất xét nghiệm Cyclosporin, chất chuẩn Cyclosporin, chất kiểm tra chất lượng Cyclosporin.

### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Tùy theo yêu cầu mà có thể lấy máu định lượng Cyclosporin ở những thời điểm khác nhau.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Chỉ sử dụng mẫu máu toàn phần thu thập trong ống EDTA cho xét nghiệm Cyclosporine. Phải ghi rõ thời điểm lấy mẫu và lần cuối sử dụng Cyclosporine lên ống đựng mẫu.

- Các chất chống đông dạng lỏng có thể có làm loãng bệnh phẩm dẫn đến giảm nồng độ Cyclosporine của người bệnh.
- Bệnh phẩm ổn định đến 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C. Nếu xét nghiệm được thực hiện sau hơn 7 ngày cần bảo quản đông lạnh (-10°C hoặc lạnh hơn). Không bảo quản mẫu đã tiền xử lý.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải trộn kỹ trước khi tiền xử lý.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Cyclosporine. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Cyclosporine đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Xét nghiệm Cyclosporine yêu cầu phải thực hiện bước tiền xử lý bệnh phẩm bằng tay theo quy trình sau:

1. Trộn mỗi mẫu (mẫu bệnh phẩm, mẫu chuẩn hay mẫu chứng) bằng cách lắc đảo ngược nhẹ ống đựng mẫu từ 5-10 lần. Mẫu máu toàn phần để lâu hơn sẽ phải trộn lâu hơn. Nên kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo mẫu được trộn đúng cách.
2. Hút chính xác 200µL của mỗi mẫu vào ống XSYSTEMS Centrifuge Tube ngay sau khi trộn. Sử dụng mỗi ống tube khác nhau cho mỗi mẫu. Phải sử dụng đầu côn mới cho mỗi lần hút 200µL. Không được lau đầu côn. Không sử dụng lại đầu côn cho các lần chạy lặp lại.
3. Thêm 100µL thuốc thử ARCHITECT Cyclosporine Whole Blood Solubilization vào mỗi ống ly tâm, chú ý để đầu côn chạm vào thành ống ly tâm.
4. Thêm 400µL thuốc thử ARCHITECT Cyclosporine Whole Blood Precipitation vào mỗi ống ly tâm, đầu côn chạm vào thành ống. Cyclosporine Whole Blood Precipitation Reagent rất dễ bay hơi cần đóng chặt nắp khi không sử dụng để tránh bay hơi.
5. Sau khi thêm ARCHITECT Cyclosporine Whole Blood Precipitation Reagent vào tất cả các ống ly tâm, đậy nắp tất cả các ống ly tâm và trộn bằng máy Vortex từ 5-10 giây. Cài đặt chế độ trộn lắc lớn nhất. Cần quan sát bằng mắt thường để đảm bảo hỗn hợp mẫu với thuốc thử hòa tan và kết tủa đồng nhất.
6. Ly tâm các ống tube trong vòng 4 phút tốc độ ly tâm 13 000 vòng/ph.
7. Mở nắp mỗi ống tube và gạt chất nổi bề mặt vào ống Transplant Pretreatment Tube ARCHITECT iSystem. Lưu ý nên gạt mà không nên hút chất nổi bề mặt vì có thể làm vẩn đục chất kết tủa bên dưới. Chỉ ống Transplant Pretreatment Tubes (LN 1P06-01) được chấp nhận khi tiền xử lý mẫu cyclosporine sử dụng cho ARCHITECT iSystem. Độ tin cậy của các kết quả xét nghiệm ARCHITECT có thể bị ảnh hưởng

nếu không sử dụng Transplant Pretreatment Tubes cho xét nghiệm ARCHITECT Cyclosporine.

8. Lắc trộn ống Transplant Pretreatment Tube trong 5-10 giây.
9. Chuyển ống Transplant Pretreatment Tube vào giá đỡ mẫu ARCHITECT.

Sau khi thực hiện xong bước tiền xử lý, tiếp tục thực hiện như sau

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

Lưu ý: Xét nghiệm Cyclosporin nếu muốn làm lại phải thực hiện từ bước tiền xử lý. Không sử dụng lại mẫu tiền xử lý đã phân tích xong để chạy lại xét nghiệm.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Không có giá trị bình thường cho xét nghiệm này vì nó phụ thuộc vào từng người bệnh, yêu cầu điều trị cũng như thời gian lấy mẫu.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Nhiều thuốc điều trị có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm Cyclosporin. Khắc phục: Bác sỹ điều trị cần nắm rõ những cảnh báo về các thuốc điều trị và nồng độ của nó ảnh hưởng thế nào đến kết quả xét nghiệm Cyclosporin trong khi đánh giá kết quả xét nghiệm.

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

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 40 mg/dL .
- + Protein toàn phần: <12g/dL
- + Acid Uric <20 mg/dL
- + Huyết thanh đục: Triglycerid < 1500 mg/dl.
- + Hematocrit: <25% hay >55%.

## 54. ĐỊNH LƯỢNG D-DIMER

### I. NGUYÊN LÝ

D. Dimer là sản phẩm thoái giáng của Fibrin. D- Dimer là bằng chứng cho sự hiện diện của fibrin trong tuần hoàn. Có thể giúp chẩn đoán bệnh lý huyết khối tĩnh mạch đã được hình thành khi người bệnh có tình trạng tăng đông máu và rải rác trong lòng mạch.

Định lượng theo phương pháp miễn dịch đo độ đục, được tăng cường các hạt latex. Các hạt latex với kích thước đồng đều được phủ bởi các kháng thể đơn dòng D-dimer đồng vị. Phức hợp kháng nguyên-kháng thể được tạo thành khi cho thêm mẫu bệnh phẩm (huyết thanh, huyết tương) có chứa D-dimer. Sự thay đổi mật độ hấp thụ theo thời gian phụ thuộc vào nồng độ của D-dimer đồng vị có trong mẫu cần phân tích.

### II. CHUẨN BỊ

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

2. **Phương tiện, hóa chất**

#### 2.1. Phương tiện

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

- Máy ly tâm

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

- Pipet các loại, ống sample cup

- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng

- Giá đựng ống nghiệm

#### 2.2. Hóa chất

- Thuốc thử 1 (R1) Buffer, pH 8.2

- Thuốc thử 1(R2) Các vi hạt Latex được bao phủ bởi kháng thể kháng D-dimer người: 0.15%

Thuốc thử R1 và 2 có thể ổn định đến thời hạn ghi trên hộp thuốc thử khi bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C. Khi mở nắp có thể ổn định trên khay lạnh đựng hóa chất trong thời hạn 28 ngày (không tắt máy)

- Dung dịch chuẩn: dựng đường chuẩn theo 6 điểm với các nồng độ do nhà sản xuất cung cấp.

- QC: 2 mức: low và high

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

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

### **3. Người bệnh**

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

### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Phân tích trên mẫu máu, có thể dùng chất chống đông thích hợp là Natri citrat

Tính ổn định của mẫu ổn định 8h/nhiệt độ 15-25 °C; 4 ngày/nhiệt độ 4-8 °C;  
tháng/nhiệt độ -20°C

6

Mẫu chỉ được đông 1 lần, Khi vẫn đục cần phải ly tâm trước khi phân tích

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

Dựng đường chuẩn: theo 6 nồng độ

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

#### **2.2. Phân tích mẫu**

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

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

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **\* Giá trị tham khảo**

< 50µg/L (0,05mg/L)

### **\*Tăng trong**

- Tắc mạch phổi
- Huyết khối tĩnh mạch sâu

- Đông máu rải rác trong lòng mạch
- Nhồi máu cơ tim
- Sản giật
- Chấn thương
- Sau điều trị fibrin
- **Một số yếu tố làm tăng kết quả xét nghiệm:**
  - + Thuốc tiêu fibrin
  - + Khi nồng độ RF trong máu tăng cao
- **Một số chú ý:**
  - Khi nồng độ D-Dimer tăng cao chứng tỏ có tình trạng hình thành huyết khối và tiêu fibrin đã diễn ra.
  - Khi nồng độ D-Dimer bình thường thì người bệnh chưa xảy ra tình trạng hình thành huyết khối và tiêu fibrin.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả khi: Nồng độ bilirubin > 20mg/dL; Hemoglobin > 500 mg/dL; Triglycerid > 1500mg/dL; Yếu tố dạng thấp > 100 IU/mL.
- Xử trí: Chú ý khi lấy máu tránh vỡ hồng cầu, các mẫu ở hồng cầu nên loại và lấy mẫu máu khác. Mẫu sau khi ly tâm nên phân tích trong vòng 2giờ.



## 55. ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN D

Vitamin D có chức năng duy trì nồng độ calci và phospho trong máu bình thường liên quan đến sự mật độ xương, giúp điều hòa sự tăng sinh của tế bào, sự biệt hóa tế bào và tân tạo thành mạch. Ngoài ra một số bệnh lý khác cũng có liên quan với tình trạng thiếu Vitamin D.

### I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý định lượng theo phương pháp miễn dịch kiểu cạnh tranh, sử dụng công nghệ điện hóa phát quang (ECLIA). Tổng thời gian phân tích một mẫu 18 phút.

- Giai đoạn ủ thứ nhất: 25-OH vitamin D3 trong mẫu bệnh phẩm cạnh tranh với biotin có gắn vitamin D trong phức hợp trong thuốc thử R2 (gồm biotin-vitamin D/ polyclonal 25-OH vitamin D3- Kháng thể đặc hiệu có gắn ruthenium ). Phần còn lại của phức hợp phụ thuộc vào nồng độ chất phân tích trong mẫu.
- Giai đoạn ủ thứ hai: Sau khi cho thêm các vi hạt được bao phủ bởi Streptavidin. Phức hợp được gắn kết vào pha rắn do sự tương tác giữa biotin và streptavidin
- Phức hợp phản ứng được đưa vào buồng đo. Tại đây các vi hạt được giữ lại bằng từ tính trên bề mặt điện cực. Những chất thừa được rửa đi bằng procell. Dùng một dòng điện một chiều tác động vào điện cực nhằm kích thích phát quang và cường độ tín hiệu ánh sáng phát ra có thể đo được bằng bộ phận nhân quang.
- Kết quả được tính toán dựa vào đường cong chuẩn thu được bằng cách chuẩn 2 điểm và đường cong gốc được cung cấp từ nhà sản xuất. Nồng độ chất cần định lượng tỷ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được.

### II. CHUẨN BỊ

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

2. **Phương tiện, hóa chất**

#### 2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: Elecsys 1010, Elecsys 2010, Modular analytics e 170, cobas e 411, cobas e 601 và một số máy khác.
  - Máy ly tâm
  - Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
  - Pipet các loại, ống đựng mẫu (sample cup)
  - Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
  - Giá đựng ống nghiệm

## **2.2. Hóa chất**

- Lọ 1 (M) - nắp trong, có Streptavidin-coated microparticles, thể tích 6,5 mL: (nồng độ Streptavidin-coated microparticles 0,72 mg/mL) và chất bảo quản.
- Lọ 2 (R1) nắp màu xám, có Reaction buffer: 8 mL; Acetate buffer khoảng 220 mmol/L, pH 3.9; albumin (human) 2 g/L; chất bảo quản.
- Lọ 3 (R2) nắp màu đen, có Anti-25-OH vitamin D3-Ab~<sup>3</sup>Ru(bpy); 25-OH vitamin D derivate~biotin thể tích 9 mL: Polyclonal anti-25-OH vitamin D3 antibody (sheep) labeled with ruthenium complex 1.5 mg/L; biotinylated 25-OH vitamin D 0.15 mg/L; phosphate buffer 20 mmol/L, pH 6.5; Chất bảo quản.
- Procell; Clean cell
- Dung dịch chuẩn
- Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3.

## **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

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

## **3. Người bệnh**

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

## **4. Phiếu xét nghiệm**

Có phiếu xét nghiệm ghi rõ yêu cầu xét nghiệm của bác sỹ lâm sàng.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Thực hiện trên mẫu máu, có thể sử dụng: Huyết thanh; Huyết tương: dùng chất chống đông Li-Heparin, EDTA.

Tính ổn định của mẫu: Mẫu ổn định 8h/ nhiệt độ 18-25°C; 4 ngày/ nhiệt độ 2-8°C

6 tháng/nhiệt độ -20°C. Không để đông đá với mẫu huyết tương dùng chống đông Li-heparin.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

- Dựng đường chuẩn theo mẫu nhà sản xuất
- Phân tích QC: ở cả 3 level: 1, 2 và 3. Khi QC đạt mới tiến hành phân tích mẫu

## **2.2. Phân tích mẫu**

- Mẫu bệnh phẩm sau khi ly tâm tách huyết tương, huyết thanh nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h
- Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm
- Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và thao tác theo protocol của máy, máy sẽ tự động phân tích.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

**Trị số tham khảo:** 50 - 80 nmol/L (20-30 ng/mL).

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Một số yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi: Hemoglobin > 0,062 mmol/L (0,1 g/dL); Bilirubin máu > 205  $\mu$ mol/L (12 mg/dL); Biotin > 82 nmol/L (20ng/mL); Yếu tố dạng thấp (RF) máu > 1500 IU/mL.
- Xử trí: khi chuẩn bị mẫu: mẫu bị vỡ hồng cầu có thể loại lấy mẫu máu khác.
- Người bệnh đang dùng thuốc Biotin cần ngừng thuốc  $\geq$  8 giờ.

## **56. ĐỊNH LƯỢNG DIGOXIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Digoxin là thuốc trợ tim thuộc nhóm glycosid .

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

Đầu tiên: Cho mẫu bệnh phẩm có Digoxin tiếp xúc với kháng thể đặc hiệu kháng digoxin đánh dấu ruthenium, phức hợp miễn dịch được thành lập, lượng phức hợp tạo ra tỷ lệ với nồng độ chất phân tích có trong mẫu.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và dẫn xuất digoxin đánh dấu biotin, digoxin đánh dấu biotin cạnh tranh với digoxin trên phức hợp giữa digoxin và kháng thể digoxin đánh dấu ruthenium, hình thành phức hợp kháng nguyên kháng thể. Toàn bộ phức hợp mới trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin.

Như vậy nồng độ Digoxin trong mẫu thử càng cao thì phức hợp dẫn chất digoxin đánh dấu biotin và kháng thể kháng digoxin đánh dấu ruthenium càng thấp. Vì vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ digoxin có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

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

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, nên lấy máu sau khi dùng thuốc 6-8 giờ.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

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

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Khoảng điều trị thông thường là từ 0.9 - 1.2 ng/mL. Nếu > 2.0 ng/mL được coi là có độc tính, tuy nhiên để chẩn đoán ngộ độc cần căn cứ vào cả triệu chứng lâm sàng và xét nghiệm bởi có những trường hợp chồng chéo giữa liều gây độc và liều không gây độc.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL .
  - + Tán huyết: Hemoglobin <1.0 g/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
  - + RF < 1630 IU/mL
  - + Biotin <100 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 57. ĐỊNH LƯỢNG DIGITOXIN

### I. NGUYÊN LÝ

Digitoxin được định lượng bằng phương pháp ức chế miễn dịch đo độ đục.

Kháng thể đơn dòng đặc hiệu với digitoxin và dẫn xuất digitoxin được cho vào mẫu bệnh phẩm. Phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể xảy ra làm tăng độ đục, có thể được đo ở 700 nm. Digitoxin từ mẫu thử cạnh tranh với dẫn xuất digitoxin do đó ức chế các phản ứng ngưng kết.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

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

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Digitoxin, chất chuẩn Digitoxin, chất kiểm tra chất lượng Digitoxin.

#### 3. Người bệnh

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

#### 4. Phiếu xét nghiệm

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

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông do xét nghiệm này yêu cầu sử dụng mẫu bệnh phẩm là huyết thanh. Bệnh phẩm ổn định 3 ngày ở 2-8°C.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

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

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

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Nồng độ Digitoxin trong khoảng 10-30 ng/mL đủ đảm bảo tác dụng điều trị.
- Nồng độ Digitoxin >30 ng/mL có thể gây độc.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 40 mg/dL.
- + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1100 mg/dL.

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

## 58. ĐỊNH LƯỢNG CÁC CHẤT ĐIỆN GIẢI ( $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Cl}^-$ )

### I. NGUYÊN LÝ

Các chất điện giải liên quan đến rất nhiều các chuyển hóa quan trọng trong cơ thể.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  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  $2-8^{\circ}\text{C}$  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, cùn, găng tay ...
3. **Người bệnh:** được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.
4. **Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. **Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin (không dùng chất chống đông là EDTA, oxalate xitrat). Bảo quản ở  $2-8^{\circ}\text{C}$  trong vòng 14 ngày ( $\text{Cl}^-$  được 7 ngày). 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 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
- Bồng
- Dùng thuốc lợi niệu.

##### **- Na máu tăng trong:**

- Tổn thương ống thận, suy thượng thận.
- Dùng thuốc lợi niệu...

##### **- Na máu giảm:**

- Viêm thận.
- Suy tim.
- Nhiễm trùng nặng có sốt.
- Xơ gan..

##### **- Clo máu tăng trong:**

- Ăn mặn, mất nước, tiêu chảy nặng, dò ruột...
- Suy thận cấp, viêm thận.

- Cường cận giáp
  - Nhiễm kiềm hô hấp, nhiễm acid chuyển hoá.
- Clo máu giảm trong:
- Ăn nhạt.
  - 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 Natri hoặc kali hoặc clo | Sai lệch kết quả            | Không sử dụng các mẫu này |
| Bệnh phẩm huyết tán                                                                                               | Kết quả Kali sai tùy mức độ | Không sử dụng mẫu này     |

## 59. ĐỊNH LƯỢNG FATTY ACID BINDING PROTEIN (H-FABP)

H-FABP (Fatty Acid Binding Protein) là protein vận chuyển Acid béo và được xem là một dấu ấn sinh học tim mạch.

Protein gắn với acid béo (H-FABP) là protein bào tương khoảng 15kDa gắn với acid béo chuỗi dài có vai trò quan trọng trong chuyển hóa lipid. Có các loại FABP khác nhau: tim (H-FABP) gan (Liver-FABP), và ruột. Cơ tim người có nồng độ cao H-FABP là một marker nhạy với xơ hóa cơ tim và dùng trong chẩn đoán và theo dõi nhồi máu cơ tim

### I. NGUYÊN LÝ

Kỹ thuật định lượng H-FABP dựa trên nguyên tắc phản ứng miễn dịch gắn Enzym (ELISA). Kỹ thuật sử dụng kháng thể nguồn gốc thỏ tinh chế ái lực kháng với H-FABP cố định vào pha rắn (giếng) và một kháng thể thứ 2 kháng với H-FABP có gắn với enzym peroxidase. H-FABP trong mẫu phản ứng trực tiếp với các kháng thể 1 và 2 kết quả hình thành kiểu phức hợp sandwich với 3 thành phần mà phân tử H-FABP ở giữa. Sau khi ủ dung dịch sẽ có màu xanh do peroxidase xúc tác phân giải TMB. Phản ứng được dừng lại khi thêm dung dịch dừng phản ứng và hỗn hợp sẽ chuyển màu xanh sang vàng và được đo ở 450 nm. Nồng độ H-FABP tỷ lệ thuận với đậm độ màu đo được.

### II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

2. Phương tiện, hóa chất

2.1 . Phương tiện

- Pipet thể tích 50, 100, 150, và 300 ul
- Đầu pipet dùng 1 lần.
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Máy lắc
- Máy đọc màu giếng ELISA với kính lọc 450 nm, OD >2.0

Hóa chất

- + Giếng (đĩa) chứa kháng thể thỏ kháng H-FABP. (đĩa chứa 96 giếng trong túi nắp kéo, có chất hút ẩm). Lưu trữ 2 – 8oC
- + Dung dịch kháng thể gắn enzym

- + Dung dịch chất nồng độ chuẩn (250  $\mu$ l), 1000 ng/ml H-FABP thử (bảo quản ở -20°C).
- + Dung dịch pha loãng
- + Đệm rửa
- + Thuốc thử TMB (One-Step).
- + Dung dịch dừng phản ứng (1N HCl).

### 2.3. Bệnh phẩm

- + Huyết thanh.
- + Huyết tương (chống đông bằng Li-Heparin, EDTA)

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

4. Phiếu xét nghiệm: Được chỉ định xét nghiệm định lượng H-FABP

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Mẫu huyết thanh hoặc huyết tương không cần xử lý trước. Trường hợp cần thiết thì pha loãng mẫu.
2. Tất cả các thuốc thử phải đạt nhiệt độ phòng trước khi sử dụng. Mẫu bệnh, mẫu chứng, mẫu chuẩn phải được xét nghiệm 2 lần.
3. Chuẩn bị mẫu chuẩn
  - Làm tan đông chuẩn H-FABP nồng độ 1000 ng/ml.
  - Đánh dấu 7 ống nghiệm với các nồng độ 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,56; và 0 ng/ml.
  - Lấy 540  $\mu$ l của dung dịch hòa loãng vào ống đánh dấu 100ng/ml và 300  $\mu$ l vào các ống còn lại
  - Lấy 60  $\mu$ l dung dịch chuẩn 1000 ng/ml H-FABP vào ống đánh dấu 100 ng/ml và lắc. Đây là dung dịch chuẩn nồng độ H-FABP 100 ng/ml.
  - Chuẩn bị mẫu chuẩn H-FABP nồng độ 50 ng/ml bằng cách trộn 300  $\mu$ l dung dịch hòa loãng với 300  $\mu$ l dung dịch chuẩn H-FABP 100 ng/ml. tương tự làm với các mẫu chuẩn H-FABP 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,56 ng/ml. Để dung dịch chuẩn H-FABP 1000 ng/ml bảo quản ở -20°C.

### 4. Các bước phân tích

1. Đặt các bản giếng vào bộ phận cố định
2. Hút 100  $\mu$ l các dung dịch chuẩn và mẫu thử vào các giếng
3. Cho vào mỗi giếng 100  $\mu$ l dung dịch kháng thể gắn enzyme (Enzyme Conjugate)

4. Ủ ở nhiệt độ phòng ( $18^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$ ) trong 60 phút với máy lắc nhẹ 100 rpm
5. Loại bỏ dung dịch trong các giếng bằng cách lắc nhẹ bản giếng vào chỗ bồn chứa chất thải sinh học hoặc bằng máy rửa
6. Rửa các giếng 5 lần bằng đệm rửa mỗi lần 400  $\mu\text{l}$
7. Úp ngược bản giếng vào giấy thấm để loại hết nước rửa
8. Cho 100  $\mu\text{l}$  dung dịch TMB vào các giếng. lắc 10 giây
9. Ủ trong tối, nhiệt độ phòng 20 phút
10. Dừng phản ứng bằng cách thêm 100  $\mu\text{l}$  dung dịch dừng vào mỗi giếng
11. Lắc 30 giây. Đảm bảo tất cả dung dịch màu xanh đã chuyển thành màu vàng ngay.
12. Đo mật độ quang ở bước sóng 450 nm với máy đọc bản giếng trong vòng 15 phút. Khi mật độ quang quá giới hạn đo có thể đo thay thế ở bước sóng 405 nm.

#### 5. Tính kết quả.

- Tính kết quả trung bình cho mỗi mẫu chuẩn và mẫu thử
- Vẽ đường chuẩn dựa vào mật độ quang đo được và nồng độ chuẩn
- Dựa vào đường chuẩn tính ra nồng độ H-FABP mẫu thử dựa trên mật độ quang đo được.
- Mật độ quang tham khảo

| H-FABP (ng/ml) | Absorbance (450nm) |
|----------------|--------------------|
| 100            | 1,273              |
| 50             | 0,856              |
| 25             | 0,579              |
| 12,5           | 0,378              |
| 6,25           | 0,278              |
| 3,125          | 0,216              |
| 1,56           | 0,196              |
| 0              | 0,165              |

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Khi nhồi máu cơ tim H-FABP vào máu rất nhanh do kích thước nhỏ và độ hòa tan tốt. H-FABP tăng sớm sau nhồi máu cơ tim 3 giờ và trở về bình thường trong vòng 12 đến 24 giờ.

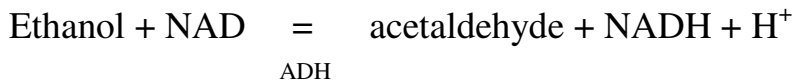
#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ**

- Như các kỹ thuật ELISA đòi hỏi người làm có kinh nghiệm và độ lặp lại cao
- Quá trình rửa có ý nghĩa quan trọng nếu rửa không đầy đủ và không kỹ dẫn đến kết quả sai và mật độ quang tăng giả tạo.

## **60. ĐỊNH LƯỢNG ETHANOL (Định lượng nồng độ cồn)**

## I. NGUYÊN LÝ

Ethanol được định lượng theo phương pháp động học enzym.



Ethanol và NAD được chuyển đổi thành acetaldehyd và NADH bởi ADH (alcoholdehydrogenase).

Các NADH được hình thành trong quá trình phản ứng làm thay đổi độ hấp thụ, nồng độ ethanol được đo ở bước sóng 340nm.

## II. CHUẨN BỊ

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

### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 6000, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Ethanol, chất chuẩn Ethanol, chất kiểm tra chất lượng Ethanol.

**3. Người bệnh:** Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, với người bệnh bị tai nạn cần thông báo với người nhà người bệnh ...

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

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin và EDTA. Lưu ý không sử dụng chất sát khuẩn có cồn để lấy máu. Ống lấy máu phải đạt tiêu chuẩn và nút đảm bảo chặt, kín. Máu cần chuyển tới phòng xét nghiệm trong vòng 30 phút.
- Máu cần được ly tâm ngay tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 15- 25<sup>0</sup>C, 2 tuần ở 2- 8<sup>0</sup>C, 4 tuần ở (-15)- (-25)<sup>0</sup>C. Nếu chống đông bằng Na Fluorid thì bệnh phẩm ổn định được 2 tuần ở 25<sup>0</sup>C, 3 tháng ở 5<sup>0</sup>C, 6 tháng ở -15<sup>0</sup>C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích.
- Bệnh phẩm (Huyết thanh, huyết tương) sau khi đã được tách cần đựng trong ống đậy kín. Bệnh phẩm cần được phân tích ngay trong vòng 5 phút, chỉ lấy bệnh phẩm đủ cho 1 lần phân tích. Nếu phải phân tích lại nên lấy mẫu bệnh phẩm khác ở ống gốc.
- Bệnh phẩm là máu toàn phần cần xử lý như sau:

Lấy 300 µl Acid tricloacetic 10% + 300 µl máu, trộn đều rồi ly tâm 5000 vòng trong 5 phút, tách lấy phần dịch nổi.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: <10.9 mmol/L
- Ethanol từ 10.9-21.7 mmol/l: Biểu hiện đỏ mặt, nôn mửa, phản xạ chậm chạp, giảm nhạy bén.
- 21.7 mmol/l: Biểu hiện ức chế thần kinh trung ương.
- 86.8 mmol/l: Có thể gây nguy hại cho tính mạng.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL .
- Tán huyết: Hemoglobin < 0.2 g/dl. Nếu nồng độ Hb quá mức này cần xử lý mẫu như mẫu máu toàn phần.
- Huyết thanh đục: Triglyceride < 500 mg/dl.
- Acid Lactic < 30 mmol/L.

## **61. ĐỊNH LƯỢNG ESTRADIOL (E2)**



Estrogen chịu trách nhiệm phát triển tính dục nữ. Trong sinh học, dạng estrogen hoạt động chủ yếu là 17 $\beta$ -Estradiol. Đây là một steroid hormone có trọng lượng phân tử khoảng 272 dalton. Estrogen chủ yếu được sản xuất ở buồng trứng nhưng một lượng nhỏ được sản xuất ở tinh hoàn và vỏ thượng thận. 98% estradiol gắn vào protein. Estrogen thay đổi theo chu kỳ kinh nguyệt.

## I. NGUYÊN LÝ

E2 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Estradiol trong mẫu thử cạnh tranh với dẫn xuất Estradiol trong thuốc thử đánh dấu bằng chất ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ nghịch với nồng độ Estradiol có trong mẫu thử.

## II. CHUẨN BỊ

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

### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích.

Các loại dung dịch hệ thống khác

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

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

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

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- 1. Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C trong vòng 2 ngày, ở - 20<sup>0</sup>C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Trị số bình thường:

- + Nam giới: 28 – 156 pmol/l
- + Nữ giới :
  - + Pha nang: 46 – 407 pmol/l
  - + Rụng trứng: 315 – 1828 pmol/l
  - + Thể vàng: 161 – 774 pmol/l
  - + Tiền mãn kinh: 18.4 – 201 pmol/l

- E2 máu tăng trong:

- + Dậy thì sớm ở trẻ em.
- + Bề kinh do tăng tiết hormon.
- + U lớp vỏ hay lớp hạt của nang trứng...
- + E2 phối hợp với CEA làm tăng giá trị khi chẩn đoán ung thư vú. E2 còn tăng nhẹ trong bệnh xơ gan, viêm gan, bệnh vú lành tính..

- E2 máu giảm trong:

- + Hội chứng buồng trứng không phát triển.
- + Dọa xảy thai hoặc nhiễm độc thai.
- + Hội chứng Sheehan...

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân                                                                                              | Sai sót                                | Xử trí                                                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 1129 $\mu\text{mol/L}$ , huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng biotin | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ > dải đo (18,4-15781 pmol/L)                                                                     | Sai lệch kết quả                       | Pha loãng bệnh phẩm                                                  |

## 62. ĐỊNH LƯỢNG uE3 (UNCONJUGATED ESTRIOL)

Estriol là sản phẩm thoái hóa của Estradiol (là một trong ba chất estrogen). Estriol chủ yếu dưới dạng liên hợp với acid glucuronic và acid sulfuric. Một lượng nhỏ còn lại ở dạng tự do hay Estriol không liên hợp. Estrogen được tổng hợp từ buồng trứng, tinh hoàn, rau thai, vỏ thượng thận.

### I. NGUYÊN LÝ

Nồng độ uE3 được xác định dựa trên phép phân tích miễn dịch cạnh tranh hóa phát quang đánh dấu enzym (Enzyme-labeled chemiluminescent competitive immunoassay)

Quy trình phản ứng:

- Ban đầu, mẫu của người bệnh sẽ được ủ với hạt bead trong vòng 30 phút. Suốt thời gian này, uE3 trong mẫu sẽ liên kết với một lượng giới hạn kháng thể đa dòng kháng Estriol được phủ trên hạt bead.
- Sau đó, thuốc thử được thêm vào tube phản ứng trên và tiếp tục ủ trong 30 phút. Estriol (liên hợp với enzym ALP) trong thuốc thử sẽ liên kết với lượng kháng thể kháng Estriol còn lại trên hạt bead.
- Những thành phần không liên kết sẽ được rửa ly tâm để loại bỏ. Cuối cùng, cơ chất phát quang được thêm vào tube phản ứng để tạo tín hiệu nhờ sự xúc tác của enzym ALP, tín hiệu thu được sẽ tỷ lệ thuận với lượng enzym ALP, hay tỷ lệ nghịch với lượng uE3 có trong mẫu.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** Bác sỹ, cử nhân được đào tạo sử dụng máy Immulite 2000.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**2.1. Phương tiện:** Hệ thống máy phân tích Immulite 2000 của hãng SIEMENS.

#### 2.2. Hóa chất

- Pha rắn: Hộp chứa hạt bead

- + Chứa 200 hạt bead được phủ kháng thể đa dòng kháng Estriol từ thỏ
- + Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Pha lỏng: Hộp chứa thuốc thử

- + Chứa 11,5 mL enzym ALP (từ ruột bê) liên hợp với Estriol trong dung dịch đệm, có chất bảo quản.

- + Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn
- Các dung dịch hiệu chuẩn (Adjustor) uE3:
  - + 2 lọ (mức thấp và mức cao) chứa uE3 trong huyết thanh đã được xử lý có nguồn gốc từ người (4mL/lọ).
  - + Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C trong 30 ngày sau mở nắp, 6 tháng ở -20°C.
- Các thành phần không được cung cấp kèm theo Kit:
  - + Dung dịch pha loãng mẫu: Multi-Diluent 2
  - + Cơ chất hóa phát quang (Chemiluminescent Substrate): là một ester phosphate của adamantyl dioxetane, bị thủy phân dưới xúc tác của enzym ALP tạo thành một dạng trung gian không ổn định. Chất trung gian này nhanh chóng bị phá vỡ liên kết để chuyển thành dạng ổn định, đồng thời phát xạ ánh sáng.
  - + Dung dịch rửa các kim hút (Probe wash)
  - + Dung dịch vệ sinh các kim hút (Probe Cleaning Kit)
  - + Tube phản ứng, Tube mẫu
  - + Dung dịch kiểm tra chất lượng (Control): 2 mức
- \* **Lưu ý:**
  - + Chỉ sử dụng để chẩn đoán trong phòng thí nghiệm
  - + Thuốc thử được loại bỏ theo quy định
  - + Chất bảo quản Natri azide (dưới 0,1 g/dL). Khi xử lý phải dùng một lượng nước lớn để rửa, tránh sự ăn mòn đường ống.
  - + Cơ chất hoá phát quang: tránh nhiễm bẩn, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời.
  - + Nước: sử dụng nước cất hoặc nước đã khử ion.

### 3. Người bệnh

Thai phụ tham gia sàng lọc trước sinh ở quý II của thai kỳ (tuần thai từ 14 đến 20 tuần) dành cho thai phụ đến muộn hoặc sàng lọc quý I có nghi ngờ. Không nhất thiết yêu cầu người bệnh nhịn ăn trước khi lấy máu làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:** theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế, phải điền đầy đủ thông tin của người bệnh...

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Mẫu phân tích: Chỉ dùng Huyết thanh

- Xử lý mẫu:
  - + Đảm bảo cục máu đông co lại hoàn toàn trước khi ly tâm mẫu để tách huyết thanh, tránh nhiễu kết quả do sự có mặt của fibrin.
  - + Khi sử dụng máu bị vỡ hồng cầu, việc đánh giá kết quả cần thận trọng.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để làm trong những mẫu có Lipid cao.
- Thể tích mẫu cần thiết: 20  $\mu$ l huyết thanh.
- Bảo quản: 7 ngày ở 2 – 8°C, 6 tháng ở -20°C.
- Pha loãng mẫu: pha loãng mẫu với dung môi thích hợp trước khi phân tích nếu nghi ngờ mẫu có nồng độ uE3 cao hơn ngưỡng đo của máy

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

### **2.1. Quy trình phân tích**

- Để có kết quả tối ưu, cần tuân thủ các bước của quy trình bảo trì theo sách hướng dẫn IMMULITE 2000. Bao gồm: chuẩn bị, cài đặt, hòa loãng, hiệu chỉnh đường chuẩn (Adjustment), chạy kiểm tra chất lượng và phân tích.
- Chu kỳ hiệu chỉnh lại đường chuẩn (Adjustment) được khuyến cáo là 2 tuần, hoặc khi chạy kiểm tra chất lượng không đạt, hoặc khi thay Lot hóa chất mới.
- Chạy kiểm tra chất lượng ít nhất là 2 mức (thấp và cao)

### **2.2. Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút**

### **2.3. Thời gian có kết quả đầu tiên: 65 phút**

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Hiện thị kết quả**

- Đơn vị đo: ng/mL  
Chuyển đổi đơn vị:  $\text{ng/mL} \times 3,467 \rightarrow \text{nmol/mL}$
- Giới hạn đo: 0,25 – 30 ng/mL
- Độ nhạy: 0,10 ng/mL

### **2. Giá trị tham khảo**

*Mỗi Phòng thí nghiệm nên thiết lập một giá trị tham khảo riêng.*

### **3. Đánh giá**

- Một số nghiên cứu chỉ ra rằng sự giảm nồng độ uE3 trong quý II của thai kỳ liên quan đến các bất thường nhiễm sắc thể của thai nhi như hội chứng Down, hoặc hội chứng Edward. Nồng độ thấp uE3 cũng liên quan đến sự thiếu hụt steroid sulfatase của nhau thai, hoặc trường hợp thai nhi mắc hội chứng Smith-Lemli-Opitz.

- Nồng độ uE3 giảm liên tục trong quý III của thai kỳ thường cho thấy sự suy thai, hoặc nguy cơ sinh con có trọng lượng thấp.

## **V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Hạn chế của phương pháp**

- Các kháng thể không đồng nhất trong huyết thanh người có thể phản ứng với các Ig trong thuốc thử gây nhiều kết quả phân tích
- Những người bệnh thường xuyên tiếp xúc với động vật hoặc các sản phẩm từ huyết thanh động vật cũng có thể gây nhiều kết quả phân tích
- Ở thai phụ có bệnh lý về tiền sản giật, thiếu máu hoặc suy giảm chức năng thận, kết quả uE3 thường bị sai lệch. Khi sử dụng kết quả phân tích với mục đích chẩn đoán, cần kết hợp với các triệu chứng lâm sàng và tiền sử bệnh của người bệnh.

### **2. Yếu tố gây nhiễu**

- Các mẫu huyết thanh có nồng độ T- Bilirubin > 200 mg/L (342  $\mu$ mol/L), hoặc nồng độ Hb > 512 mg/dL, hoặc nồng độ TG > 3000 mg/dL (33,9 mmol/L) có thể ảnh hưởng đến kết quả phân tích. Do đó, không sử dụng các mẫu này để phân tích.
- Mặc dù mẫu huyết thanh ổn định ở -20°C nhưng có một nghiên cứu chưa được công bố cho rằng có sự tăng nhẹ nồng độ uE3 (khoảng 5- 10%) khi bảo quản ở nhiệt độ này. Do đó chỉ nên bảo quản huyết thanh ở 2 - 8°C và phân tích trong vòng 7 ngày.

## 63. ĐỊNH LƯỢNG FERRITIN

Ferritin là một protein chứa sắt là dạng dự trữ sắt chủ yếu của cơ thể được lưu trữ bên trong các tế bào. Lượng nhỏ ferritin lưu hành trong máu phản ánh tổng lượng sắt lưu trữ trong cơ thể. Xét nghiệm Ferritin thường được chỉ định trong một số trường hợp bệnh lý như: Một số bệnh máu, Ung thư, suy thận mạn...

### I. NGUYÊN LÝ

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

### II. CHUẨN BỊ

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

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm miễn dịch Elecsys 2010, Cobas e411, e170, Architect...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Ferritin, chất chuẩn Ferritin, chất kiểm tra chất lượng Ferritin.

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

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

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na Heparin, K3-EDTA, Sodium citrate. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Mẫu ổn định trong 7 ngày ở 2-8 °C, 12 tháng ở -20 °C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## 2. Tiến hành kỹ thuật

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

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu:
  - + Nam 30 - 400 ng/mL
  - + Nữ 13 - 150 ng/mL
- Ferritin máu tăng trong: Các bệnh máu như Hodgkin, Lơ xê mi cấp..., Ung thư gan, tụy, phổi..., Suy thận mạn.
- Ferritin máu giảm trong: Thiếu máu do thiếu sắt.

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL .
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 0.5g / dL
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 3300 mg/dL.
  - + Biotin < 50 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
  - + RF < 2500 IU/mL.
  - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ Ferritin tới 100 000 ng/mL.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).



## **64. ĐỊNH LƯỢNG FRUCTOSAMINE**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Protein trong huyết thanh có thể gắn với glucose trong phản ứng glycosyl hóa tạo thành cetoamin. Fructosamine là từ để chỉ các cetoamin liên kết bởi glucose và protein. Trong máu, albumin chiếm tỷ lệ khá lớn nên định lượng fructosamin thường là albumin gắn với glucose. Thời gian bán hủy của albumin là từ 2-3 tuần nên định lượng fructosamin có thể kiểm tra mức đường huyết trong khoảng 2-3 tuần trước đó..

Fructosamin được định lượng bằng phương pháp so màu.

Bệnh phẩm và thuốc thử có Xanh-nitrotetrazolium cho tiếp xúc với nhau, formazan được tạo thành. Lượng formazan được hình thành tỷ lệ thuận với nồng độ của fructosamine trong mẫu thử được đo ở bước sóng 546nm.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Hitachi 717, 912, Modular P....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm fructosamine, chất chuẩn fructosamine, chất kiểm tra chất lượng fructosamine.

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin, EDTA . Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 3 ngày ở 20-25°C, 2 tuần ở 2-8°C, 2 tháng ở -20°C

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

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

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

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

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

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Bình thường Fructosamin 205p-285  $\mu\text{mol/L}$

- Tăng ở người đái tháo đường và có thể căn cứ vào fructosamine để đánh giá tình trạng tăng đường huyết của người bệnh ở trước đó 1 – 3 tuần hay lâu hơn.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

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

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 5 mg/dL.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 500mg/dL.

+ Huyết thanh đục: Triglycerid < 2000 mg/dL.

+ Đường huyết: < 50 mmol/L

+ Acid Ascorbic: < 4 mg/dl

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

## 65. ĐỊNH LƯỢNG FSH (Follicle stimulating hormone)

FSH là hormone điều hoà và kích thích phát triển tuyến sinh dục (tinh hoàn, buồng trứng), được thùy trước tuyến yên tiết ra, có 2 chuỗi polypeptide alpha và beta, có trọng lượng phân tử khoảng 32 000 dalton. Ở phụ nữ, FSH hoạt động theo trục vùng dưới đồi, tuyến yên, buồng trứng. Nồng độ FSH thay đổi theo chu kỳ kinh nguyệt, cao nhất vào giữa chu kỳ. Nồng độ FSH cũng tăng cao vào thời kỳ mãn kinh.

### I. NGUYÊN LÝ

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

### II. CHUẨN BỊ

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

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích.
- Các loại dung dịch hệ thống khác.
  - Chuẩn
  - Control: ba mức
  - Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

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

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

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C trong vòng 7 ngày, ở - 20<sup>0</sup>C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ

phòng (20-25<sup>0</sup>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.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Bình thường: Nam giới : 1.5 – 12.4 mIU/ml

Nữ giới :

Pha nang : 3.5 – 12.5 mIU/ml

Pha rụng trứng : 4.7 – 21.5 mIU/ml

Thể vàng : 1.7 – 7.7 mIU/ml

Tiền mãn kinh : 25.8 – 134.8 mIU/ml

- FSH máu tăng trong:

- + Dậy thì sớm (Nguyên nhân dưới đồi – tuyến yên).
- + Có thai, loạn sản sinh dục ở nữ.
- + Phân huỷ mô do xạ trị hoặc do virus.
- + Ung thư rau thai, HC Klinefelter.
- + Thiếu năng buồng trứng hoặc tinh hoàn...

- FSH máu giảm trong:

- + HC mãn kinh, tắt dục sớm, dùng thuốc estrogen (17 $\beta$  estradiol) và nhân tạo (diethylstilbestrol).
- + Thiếu năng vùng dưới đồi.
- + Ung thư (Buồng trứng, tinh hoàn, thượng thận), buồng trứng đa nang, thiếu năng tuyến yên ...

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân                                                                                              | Sai sót                                             | Xử trí                                                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Bệnh phẩm lấy và ống sodium citrate                                                                      | Kết quả thấp hơn so với dùng huyết thanh khoảng 20% | Không dùng loại chất chống đông này                                  |
| Bệnh phẩm lấy vào ống sodium fluoride hoặc potassium oxalate                                             | Kết quả thấp hơn so với dùng huyết thanh khoảng 14% | Không dùng loại chất chống đông này                                  |
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 1094 $\mu\text{mol/L}$ , huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng biotin | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm              | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ > dải đo (0,1-200 mIU/mL)                                                                        | Sai lệch kết quả                                    | Pha loãng bệnh phẩm                                                  |
| Nồng độ > 2000 mIU/mL                                                                                    | Hiệu ứng hook-effect                                | Pha loãng bệnh phẩm                                                  |

## **66. ĐỊNH LƯỢNG free $\beta$ hCG ( $\beta$ hCG tự do)**

hCG (human chorionic gonadotropin) là glycoprotein bao gồm 244 acid amin có trọng lượng phân tử 36.7 kDa. hCG bao gồm 2 chuỗi là  $\alpha$  và  $\beta$  liên kết với nhau trong phân tử hormone toàn vẹn. Chuỗi  $\alpha$  hCG giống với chuỗi  $\alpha$  của LH, FSH và TSH, trong khi chuỗi  $\beta$  lại có cấu trúc khác và là duy nhất cho hCG, điều này quyết định hoạt tính sinh học và chức năng của hCG. hCG được coi là hormone của nhau thai bởi nó được tiết bởi nhau thai trong thời kỳ mang thai. hCG có chức năng nuôi dưỡng trứng sau khi thụ tinh (kích thích hoàng thể tiếp tục tiết estrogen, progesterone và một số nội tiết khác có vai trò quan trọng giúp quá trình phát triển thai luôn bình thường và bền vững) và giúp trứng bám vào thành tử cung.  $\beta$ hCG tự do (free  $\beta$ hCG) chỉ chiếm khoảng 1% hCG.

### **I. NGUYÊN LÝ**

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

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

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

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm  $\beta$ hCG tự do, chất chuẩn  $\beta$ hCG tự do, chất kiểm tra chất lượng  $\beta$ hCG tự do.

#### **3. Người bệnh**

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

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông do xét nghiệm này yêu cầu sử dụng huyết thanh.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh.
- Bệnh phẩm ổn định 8h ở 15-25°C, 7 ngày ở 2-8°C, 10 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Bình thường, ở phụ nữ không mang thai  $\beta$ hCG tự do  $<0.013$  IU/L

Phụ nữ có thai:

12 tuần: 49.9 IU/L

13 tuần: 40.6 IU/L

14 tuần: 33.6 IU/L

15 tuần: 29.8 IU/L

$\beta$ hCG tự do tăng trong những trường hợp thai phụ có thai mắc hội chứng Down. Để đánh giá nguy cơ này thường kết hợp với PAPP-A và cần sử dụng phần mềm SsdwLab 5.0

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Lấy nhầm ống vào ống chống đông. Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi

nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL hay 428  $\mu$ mol/L.
- + Tán huyết: Hemoglobin <1.0 g/dl.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
- + Biotin <30 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8giờ sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ  $\beta$ hCG tự do tới 800 IU/L.
- RF <1000 IU/mL

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



## **67. ĐỊNH LƯỢNG FOLATE II**

### **(Định lượng Folate sử dụng thuốc thử thể hệ II)**

Folate (hay axit Folic) là vitamin B9. Đây là một dạng vitamin hỗn hợp nhóm B hòa tan trong nước. Folate có nhiều trong các loại thịt đỏ, gan, lòng đỏ trứng và rau có màu xanh đậm (rau muống, rau bó xôi, súp lơ, bông cải xanh...), các loại ngũ cốc và đậu (đậu đũa, đậu xanh, đậu tương, đậu Hà Lan...). Loại vitamin này rất cần thiết cho quá trình tái tạo và duy trì tăng trưởng của mọi tế bào. Xét nghiệm Folate thường được chỉ định trong những trường hợp bệnh lý về máu, thiếu dinh dưỡng...

#### **I. NGUYÊN LÝ**

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

Đầu tiên, mẫu thử được xử lý bằng thuốc thử tiền xử lý folate 1 và 2, folate gắn kết được giải phóng khỏi protein gắn kết folate nội sinh. Tiếp theo protein gắn kết kháng thể kháng folate được đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho vào mẫu thử đã qua tiền xử lý, phức hợp kháng nguyên- kháng thể folate được thành lập, lượng phức hợp tạo ra tỉ lệ với nồng độ chất phân tích có trong mẫu.

Sau khi thêm vào các vi hạt phủ streptavidin và folate đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên protein gắn kết kháng thể kháng folate đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ, hình thành phức hợp miễn dịch. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ folate trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ Folate có trong mẫu thử.

#### **II. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

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

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất tiền xử lý, Hóa chất định lượng Folate (thể hệ II), chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng Folate
- Máy móc: Có thể sử dụng các máy như Cobas e411, e170, e601, Architect...

##### **3. Người bệnh**

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

##### **4. Phiếu xét nghiệm**

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

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh.
- Bệnh phẩm ổn định 2 giờ ở 20-25°C, 2 ngày ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C. Bảo quản bệnh phẩm tránh ánh sáng. Nếu không phân tích ngay bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

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

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Bình thường Folate trong huyết thanh: 9.5 – 45.2 nmol/L
- Folate giảm trong: Thiếu máu ác tính, Thiếu máu hủy huyết, Thiếu máu hồng cầu to, Dinh dưỡng kém, Xơ gan, Cường giáp, Dùng một số thuốc như thuốc điều trị bệnh ác tính, Một vài trường hợp mang thai

### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Lấy máu không đúng kỹ thuật như gây vỡ hồng cầu. Khắc phục: Huấn luyện cán bộ có kỹ năng lấy máu thuần thục.
- Bệnh phẩm để lâu mới phân tích. Khắc phục: Nên xét nghiệm ngay sau khi bệnh phẩm được gửi đến phòng xét nghiệm.

- Lấy nhằm vào ống chống đông. Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.
- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm
- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 40 mg/dL .
  - + Tán huyết: Mẫu máu vỡ hồng cầu ảnh hưởng nhiều đến kết quả xét nghiệm do nồng độ folate trong hồng cầu cao, không sử dụng mẫu máu vỡ hồng cầu ở bất kỳ mức độ nào để làm xét nghiệm này.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
  - + Biotin <30 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
  - + Bệnh phẩm có nồng độ protein quá cao không thích hợp cho xét nghiệm do tạo gel trong cốc phản ứng.
  - + RF <1500 IU/mL

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **68. ĐỊNH LƯỢNG FT3 (Free tri iodothyronine)**

Phần lớn T3 trong máu gắn kết với protein vận chuyển (TBG, Albumin, Prealbumin), phần không gắn kết là FT3, đây là phần có hoạt tính sinh học của T3. Xét nghiệm FT3 thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp...

### **I. NGUYÊN LÝ**

FT3 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên FT3 trong mẫu thử và kháng thể đặc hiệu kháng FT3 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho tiếp xúc với nhau.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và FT3 đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên kháng thể đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ FT3 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ FT3 có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm FT3, chất chuẩn FT3, chất kiểm tra chất lượng FT3.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH<sub>4</sub>-Heparin và K<sub>3</sub>-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm FT3. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm FT3. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm FT3 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham chiếu: 3.95 - 6.8 pmol/l
- FT3 máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp
- FT3 máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên, Suy giáp.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 37 mg/dL .
- + Tán huyết: Hemoglobin < 2.0 g/dl.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
- + Biotin < 20 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **69. ĐỊNH LƯỢNG FT4 ( Free thyroxine)**

Phần lớn T4 trong máu gắn kết với protein vận chuyển (TBG, Albumin, Prealbumin), phần không gắn kết là FT4, đây là phần có hoạt tính sinh học của T4. Xét nghiệm FT4 thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp...

### **I. NGUYÊN LÝ**

FT4 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên FT4 trong mẫu thử và kháng thể đặc hiệu kháng FT4 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho tiếp xúc với nhau.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và FT4 đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên kháng thể đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ FT4 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ FT4 có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm FT4, chất chuẩn FT4, chất kiểm tra chất lượng FT4.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là NH<sub>4</sub>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

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 12 -22 pmol/l

- FT4 máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp

- FT4 máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên, Suy giáp.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 41 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin <2.0 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.

+ Biotin <100 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF <339 IU/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **70. ĐỊNH LƯỢNG GALECTIN 3**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Galectin 3 là protein thuộc nhóm Lectin, có khoảng 14 galectin đã được phát hiện. Galectin 3 có trọng lượng phân tử khoảng 30kD và có nhiều chức năng như hoạt hóa và tăng trưởng tế bào, kết dính tế bào và cả apoptosis... Do có nhiều chức năng như vậy nên nó cũng liên quan đến nhiều bệnh lý như ung thư, viêm, tim mạch và đột quỵ... Tuy nhiên ý nghĩa của xét nghiệm Galectin 3 chủ yếu liên quan đến bệnh lý tim mạch.

Galectin 3 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Galectin 3 là xét nghiệm miễn dịch hai bước để định lượng Galectin.

Ở bước một, bệnh phẩm có chứa Galectin 3, và vi hạt thuận từ phủ anti-Galectin 3 được kết hợp lại. Galectin 3 có trong mẫu bệnh phẩm gắn với các vi hạt phủ anti-Galectin 3. Sau khi rửa, chất kết hợp anti-Galectin 3 có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được cho vào ở bước hai để tạo hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng Galectin 3 trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Galectin 3, chất chuẩn Galectin 3, chất kiểm tra chất lượng Galectin 3.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**



- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 4 ngày ở 2-8°C, nếu thực hiện phân tích sau 4 ngày kể từ khi lấy mẫu cần trữ đông ở -10°C hay lạnh hơn.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Galectin 3. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Galectin 3. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Galectin 3 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường:

Chung cho cả nam và nữ: 9.3-25.7 ng/mL

Nam: 9.0-23.6 ng/mL

Nữ: 9.8-27.2 ng/mL

- Galectin 3 máu tăng trong: Suy tim, nhồi máu cơ tim

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin trực tiếp hoặc gián tiếp < 40 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 0.5 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 3000 mg/dl.

+ RF < 800 IU/mL

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” khi nồng độ Galectin 3 tới 1345.6 ng/mL.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 71. ĐỊNH LƯỢNG GASTRIN

Gastrin là một hormon tiêu hóa chính, có tác dụng kích thích tiết acid dạ dày. Gastrin được sản xuất bởi tế bào G của tá tràng và vùng hang vị trong môn vị của dạ dày. Gastrin tồn tại dưới 3 dạng chính: Gastrin-34, Gastrin-17 và Gastrin -14

### I. NGUYÊN LÝ

Nồng độ Gastrin được xác định dựa trên phép phân tích miễn dịch hóa phát quang đánh dấu enzym (Enzyme-labeled chemiluminescent immunoassay).

Quy trình phản ứng:

+ Mẫu của người bệnh và thuốc thử sẽ được ủ cùng với hạt bead trong vòng 60 phút. Suốt thời gian này, Gastrin trong mẫu sẽ liên kết với kháng thể đơn dòng kháng Gastrin (có gắn ligand) và liên kết với kháng thể đa dòng hoặc đơn dòng kháng Gastrin (có liên hợp với enzym ALP) trong thuốc thử để tạo thành phức hợp Sandwich: *Kháng thể (gắn ligand)-Kháng nguyên-Kháng thể (liên hợp ALP)*

+ Gastrin của mẫu trong phức hợp Sandwich sẽ được gắn lên hạt bead (được phủ anti-ligand) nhờ liên kết giữa ligand và anti-ligand.

+ Những thành phần không liên kết sẽ được rửa ly tâm để loại bỏ. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào tube phản ứng để tạo tín hiệu nhờ sự xúc tác của enzym ALP, tín hiệu thu được sẽ tỷ lệ thuận với lượng enzym ALP (có trong thuốc thử), hay tỷ lệ thuận với lượng Gastrin có trong mẫu

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sỹ, cử nhân được đào tạo sử dụng máy Immulite 2000

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

Hệ thống máy phân tích Immulite 2000 của hãng SIEMENS

##### 2.2. Hóa chất:

- Pha rắn: Hộp chứa hạt bead

+ Chứa 200 hạt bead được phủ anti-ligand có nguồn gốc từ Streptavidin

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Pha lỏng: Hộp chứa thuốc thử

+ Chứa 11,5 mL ligand có gắn kháng thể đơn dòng kháng Gastrin từ chuột, ALP (từ ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng kháng Gastrin từ chuột,

và ALP (từ ruột bê) liên hợp với kháng thể đa dòng kháng Gastrin từ thỏ, trong dung dịch đệm.

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Các dung dịch hiệu chuẩn (Adjustor) Gastrin:

+ 2 lọ chứa Gastrin-17 (mức thấp và mức cao) trong huyết thanh đông khô có nguồn gốc từ người. Hoàn nguyên chất đông khô trong mỗi lọ với 2 mL nước cất hoặc nước đã khử ion, đảo trộn nhẹ nhàng để chất đông khô tan hoàn toàn.

+ Bảo quản ổn định ở -20°C trong 30 ngày sau khi pha.

+ *(Không để ở 2-8°C vì dung dịch rất nhanh hỏng sau khi pha)*

- Các thành phần không được cung cấp kèm theo Kit:

+ Dung dịch pha loãng mẫu: Multi-Diluent 2

+ Cơ chất hóa phát quang (Chemiluminescent Substrate): là một ester phosphate của adamantyl dioxetane, bị thủy phân dưới xúc tác của enzym ALP tạo thành một dạng trung gian không ổn định. Chất trung gian này nhanh chóng bị phá vỡ liên kết để chuyển thành dạng ổn định, đồng thời phát xạ ánh sáng.

+ Dung dịch rửa các kim hút (Probe wash)

+ Dung dịch vệ sinh các kim hút (Probe Cleaning Kit)

+ Tube phản ứng, Tube mẫu

+ Dung dịch kiểm tra chất lượng (Control): 2 mức

**\* Lưu ý:**

+ *Chỉ sử dụng để chẩn đoán trong phòng thí nghiệm*

+ *Thuốc thử được loại bỏ theo quy định*

+ *Chất bảo quản Natri azide (dưới 0,1 g/dL). Khi xử lý phải dùng một lượng nước lớn để rửa, tránh sự ăn mòn đường ống.*

+ *Cơ chất hoá phát quang: tránh nhiễm bẩn, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời.*

+ *Nước: sử dụng nước cất hoặc nước đã khử ion.*

### **3. Người bệnh**

- Người bệnh được chẩn đoán mắc hội chứng Zollinger – Ellison

- Trước khi làm xét nghiệm Gastrin, người bệnh phải nhịn ăn qua đêm, tối thiểu là 12 giờ.

- 4. Phiếu xét nghiệm:** theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế, phải điền đầy đủ thông tin người bệnh...

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Mẫu phân tích: Chỉ dùng *Huyết thanh*

- Xử lý mẫu:

- + Đảm bảo cục máu đông co lại hoàn toàn trước khi ly tâm mẫu để tách huyết thanh, tránh nhiễu kết quả do sự có mặt của fibrin.

*Lưu ý:* sau khi cục máu đông co hoàn toàn, tiến hành *ly tâm lạnh* để tách huyết thanh càng sớm càng tốt, sau đó nhanh chóng bảo quản đông.

- + Khi sử dụng máu bị vỡ hồng cầu, việc đánh giá kết quả cần thận trọng.

- + Sử dụng máy siêu ly tâm để làm trong những mẫu có Lipid cao.

- Thể tích mẫu cần thiết: 50 µl huyết thanh.

- Bảo quản: 4 giờ ở 2 – 8°C, 30 ngày ở -20°C.

- Pha loãng mẫu: pha loãng mẫu trước khi phân tích nếu nghi ngờ mẫu có nồng độ Gastrin cao hơn ngưỡng đo của máy

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Quy trình phân tích

- Để có kết quả tối ưu, cần tuân thủ các bước của quy trình bảo trì theo sách hướng dẫn IMMULITE 2000. Bao gồm: chuẩn bị, cài đặt, hòa loãng, hiệu chỉnh đường chuẩn (Adjustment), chạy kiểm tra chất lượng và phân tích.
- Chu kỳ hiệu chỉnh lại đường chuẩn (Adjustment) được khuyến cáo là 2 tuần, hoặc khi chạy kiểm tra chất lượng không đạt, hoặc khi thay Lot hóa chất mới.
- Chạy kiểm tra chất lượng ít nhất là 2 mức (thấp và cao)

**2.2. Chu kỳ ủ:** 1 x 60 phút

**2.3. Thời gian có kết quả đầu tiên:** 65 phút

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

#### 1. Hiển thị kết quả

- Đơn vị đo: pg/mL

Hệ số chuyển đổi đơn vị:

$$\text{pg/mL} \times 1 \rightarrow \text{mIU/L}$$

$$\text{pg/mL} \times 0,47664 \rightarrow \text{pmol/L}$$

- Giới hạn đo: 5 – 1000 pg/mL
- Độ nhạy: 5 pg/mL

## 2. Giá trị tham khảo

- Giá trị trung vị: 32 pg/mL
- Giới hạn 95% (khoảng tin cậy): từ 13 – 115 pg/mL

*Mỗi Phòng thí nghiệm nên thiết lập một giá trị tham khảo riêng.*

## 3. Đánh giá

- Gastrin đóng vai trò chính trong việc xác định Hội chứng Zollinger-Ellison. Trong hội chứng này có sự tăng sản xuất Gastrin làm dạ dày sản xuất dư thừa acid HCl, gây loét dạ dày. Nguyên nhân thường do *khối u ở tá tràng hay tụy làm tăng sản xuất Gastrin*.
- Nồng độ Gastrin cao còn gặp trong một số trường hợp khác:
  - + Trường hợp bị suy giảm tiết acid dạ dày, ví dụ như trong bệnh thiếu máu ác tính.
  - + Tắc nghẽn môn vị kèm trướng hang vị
  - + Sau thủ thuật cắt thần kinh phế vị
  - + Một số bệnh viêm loét đường tiêu hóa thông thường.

## V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 1. Hạn chế của phương pháp

- Các kháng thể không đồng nhất trong huyết thanh người có thể phản ứng với các Ig trong thuốc thử gây nhiều kết quả phân tích
- Những người bệnh thường xuyên tiếp xúc với động vật hoặc các sản phẩm từ huyết thanh động vật cũng có thể gây nhiều kết quả phân tích
- Sử dụng kết quả phân tích với mục đích chẩn đoán, cần kết hợp với các triệu chứng lâm sàng và tiền sử bệnh của người bệnh.

### 2. Yếu tố gây nhiễu

- Hiệu ứng High-dose Hook:  $\geq 226.000$  pg/mL (đối với Gastrin G-17 loại I)
- Các mẫu huyết thanh có nồng độ Bilirubin (trực tiếp hoặc gián tiếp)  $> 50$  mg/L ( $85,5 \mu\text{mol/L}$ ), hoặc nồng độ Hb  $> 550$  mg/dL, hoặc nồng độ TG  $> 1000$  mg/dL ( $11,3$  mmol/L) sẽ ảnh hưởng đến kết quả. *Do đó, không sử dụng các mẫu này để phân tích.*

## 72. ĐO HOẠT ĐỘ G6PD

### I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ Enzym được xác định bằng cách đo tốc độ tăng mật độ quang ở bước sóng 340nm do sự tăng nồng độ của NADPH.



### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

02 người là bác sĩ, kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700 hoặc AU640
- Máy ly tâm
- Hóa chất làm xét nghiệm G6PD của hãng Randox
- QC kiểm tra mức bình thường
- QC kiểm tra mức bệnh lý
- Nước muối sinh lý

#### 3. Người bệnh

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Ghi đầy đủ thông tin cần thiết: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Máu toàn phần chống đông với EDTA, Heparine hoặc ACD (Acid Citric Dextrose). G6PD trong máu toàn phần ổn định 1 tuần ở 2-8°C, không ổn định trong dịch huyết tán. Không được để đông đá.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Rửa hồng cầu:

Lấy 0,2 ml máu toàn phần cho thêm vào 3ml nước muối sinh lý. Ly tâm 3000 vòng trong 10 phút.

Hút hết nước muối ở trên, rửa thêm 2 lần nữa. Hút hết nước muối.

Phá vỡ hồng cầu bằng 0,5ml dung dịch phá vỡ hồng cầu.

Lắc bằng máy lắc. Để 15 phút ở 2 - 8°C. Ly tâm hút dịch phía trên.

- Chạy phân tích trên máy hoá sinh tự động: Đặt vào Rack và cho vào máy sinh hóa tự động.

- Tính toán kết quả: Chia kết quả đo được trên máy cho số lượng hồng cầu trong 1 L máu hoặc hàm lượng Hb trong 1 L máu.

- Kiểm soát chất lượng:

+ Hàng ngày: Chạy 2 mức kiểm QC tra chất lượng mỗi khi phân tích mẫu bệnh phẩm. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức QC nằm trong khoảng cho phép.

+ Định kỳ: Chạy 2 mức QC sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy xét nghiệm.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Giá trị tham chiếu**

Hoạt độ G6PD hồng cầu:  $> 200 \text{ IU}/10^{12} \text{ Hồng cầu}$  hoặc  $> 6.0 \text{ IU/gHb}$

##### **2. Ý nghĩa lâm sàng**

- Thiếu hụt G6PD là một rối loạn Enzym liên quan giới tính. Có hơn 500 biến thể của bệnh này (Nhiễm sắc thể X)
- G6PD còn giảm trong bệnh thiếu máu hồng cầu hình cầu hiếm gặp và các bệnh huyết tán không do miễn dịch ở trẻ sơ sinh.
- G6PD tăng trong các bệnh: Thiếu máu ác tính, xuất huyết..tự phát, hôn mê gan, cường giáp, nhồi máu cơ tim, bệnh máu mạn tính và các bệnh thiếu máu nguyên hồng cầu khổng lồ khác.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.**

- Lưu ý các yếu tố ảnh hưởng như đồng, sulphat là những chất ức chế mạnh.
- Hồng cầu lưới có hoạt độ enzyme G6PD cao hơn hồng cầu trưởng thành vì vậy không nên làm xét nghiệm này sau một cơn tan máu nặng.



## 73. ĐỊNH LƯỢNG GH (Growth Hormon)

### I. NGUYÊN LÝ

- Phương pháp ELISA có rất nhiều dạng mà đặc điểm chung là đều dựa trên sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể, trong đó kháng thể được gắn với enzyme.
- Xét nghiệm DRG HGH ELISA là loại xét nghiệm dựa trên nguyên lý của Kỹ thuật xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzyme ở pha rắn (đáy giếng).
- Xét nghiệm này sử dụng một loại kháng thể anti-HGH ở cừu (còn gọi là kháng thể bất) cho pha rắn cố định (đáy giếng) và một loại kháng thể thứ 2 là kháng thể đơn dòng anti-HGH ở chuột (còn gọi là kháng thể phát hiện), kháng thể này được gắn kết với enzyme horseradish peroxidase. Mẫu xét nghiệm này cho phép phản ứng đồng thời với 2 loại kháng thể, kết quả là những phân tử HGH bị kẹp thành miếng sandwich giữa pha rắn và những kháng thể gắn kết với enzyme.
- Sau khi ủ 45 phút ở nhiệt độ phòng, các giếng được rửa bằng nước nhằm loại bỏ những kháng thể dính không chuyên biệt. Dung dịch TMB được cho thêm vào và ủ khoảng 20 phút, kết quả hỗn hợp có màu xanh dương. Tuy nhiên, hỗn hợp này sẽ chuyển sang màu vàng khi cho HCl 1N vào, và được đo tại bước sóng 450 nm. Nồng độ của HGH tỷ lệ với cường độ màu của mẫu xét nghiệm.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** người thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Hóa chất và thuốc thử trong bộ Kit của nhà cung cấp

|                                                      |                                                                                                  |
|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Giếng chứa kháng thể<br>(1 đĩa, 96 giếng)            | Đáy giếng có chứa kháng thể cừu anti-HGH                                                         |
| Thuốc thử gắn kết enzyme<br>(13 ml)                  | Thuốc thử có chứa kháng thể đơn dòng anti-HGH ở chuột gắn kết với enzyme horseradish peroxidase. |
| Bộ mẫu chuẩn tham chiếu<br>(1 ml/lọ)                 | Chứa 0, 2.5, 5.5, 10, 25 và 50 ng/ml hormone tăng trưởng ở người.                                |
| Thuốc thử TMB<br>(1chai, 11 ml)                      | Chứa 3, 3', 5, 5' Tetramethylbenzidine (TMB) được ổn định trong dung dịch đậm.                   |
| Dung dịch ngừng phản ứng<br>(1N HCl) (1 chai, 11 ml) | Chứa acid hydrochloric đã pha loãng                                                              |

## **2.2. Vật liệu tự chuẩn bị**

- Nước cất hoặc nước khử ion
- Pippet 0.05, 1.0, 0.2 và 1mL
- Đầu cân
- Giếng 96 lỗ
- Giấy thấm
- Giấy kẻ
- Máy vortex
- Mẫu QC (ví dụ: mẫu huyết thanh của hãng Biorad Lyphochek Control)

### **1. Dụng cụ**

Giếng đọc tại độ rộng dải tần là 10nm hoặc thấp hơn và giới hạn của mật độ quang học từ 0-2 OD hoặc ở bước sóng lớn hơn 45nm là độ hấp thụ đo được. **Lưu ý:**

- Kit này chứa đựng những vật liệu từ người, do đó những nguồn vật liệu được dùng để sản xuất bộ kit này đã được kiểm tra HBsAg, HIV ½ và HCV âm tính. Tuy nhiên, không có phương pháp nào là đảm bảo chắc chắn rằng không có mặt những tác nhân này. Do đó, tất cả những sản phẩm máu từ người, bao gồm cả mẫu huyết thanh, đều phải được xem xét sự lây nhiễm tiềm ẩn, Việc xử lý và loại bỏ phải được xác định thông qua hướng dẫn hay quy định về an toàn sinh học cấp quốc gia.
- Không sử dụng thuốc thử hết hạn dùng và không trộn lẫn các thành phần thuốc thử lại với nhau từ các bộ kit có số lô khác nhau.
- Không sử dụng thuốc thử bị đục hoặc bị nhiễm bẩn.
- Không sử dụng thuốc thử nếu chai lọ bị hỏng.
- Mỗi giếng chỉ sử dụng một lần.
- Không hút thuốc thử bằng miệng.
- Các dung dịch nên có chất bảo quản, không nên sử dụng trong phản ứng enzyme.
- Tránh tiếp xúc với HCl 1N nếu không sẽ gây rát và bỏng cho da. Nếu tiếp xúc phải rửa lại nhiều lần với nước và bôi thuốc.
- Chỉ dùng trong chuẩn đoán.

**2.4. Điều kiện bảo quản:** Bộ kit khi chưa sử dụng nên bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C, và xem hạn sử dụng ghi trên nhãn.

- Thuốc thử được mở và sử dụng phải ổn định cho đến khi hết hạn dùng nếu được bảo quản đúng ở 2-8<sup>0</sup>C.
- Các đĩa phải được đặt trong túi hút ẩm để giảm thiểu không khí tiếp xúc.

### **3. Người bệnh**

Người bệnh có triệu chứng lâm sàng về bệnh liên quan đến hormone HGH,...

**Mục đích và chỉ định xét nghiệm**

Xét nghiệm được sử dụng để chẩn đoán tình trạng rối loạn phát triển ở trẻ em: Chứng lùn tuyến yên (do giảm tiết GH ở trẻ em); Chứng người khổng lồ (do tăng tiết GH ở trẻ đang tuổi phát triển chiều cao) và chứng to đầu chi (do tăng tiết GH ở người trưởng thành).

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh lấy từ máu toàn phần. Tránh sử dụng những hóa chất thêm vào. Tránh những mẫu xét nghiệm bị tán huyết hay mẫu bị đục.
- Mẫu bệnh phẩm nên được lấy và bảo quản ở nhiệt độ  $2-8^{\circ}\text{C}$  trong 48h trước khi dùng làm xét nghiệm, và mẫu bệnh phẩm bảo quản trên 6 tháng sẽ được đông khô tại  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Đảm bảo số lượng giếng có trong ngăn chứa.
- Hút 50 $\mu\text{L}$  mẫu chuẩn, bệnh phẩm, và mẫu control vào trong các giếng tương ứng.
- Thêm 100  $\mu\text{L}$  thuốc thử gắn kết enzyme vào mỗi giếng.
- Trộn đều trong 30 giây.
- Ủ ở nhiệt độ phòng ( $18-25^{\circ}\text{C}$ ) trong 45 phút.
- Gõ nhẹ đáy giếng và rửa 5 lần bằng nước cất.
- Thêm 100  $\mu\text{L}$  thuốc thử TMB vào mỗi giếng và trộn nhẹ nhàng trong 5 giây.
- Ủ ở nhiệt độ phòng, trong bóng tối khoảng 20 phút.
- Thêm 100  $\mu\text{L}$  dung dịch Stop Solution vào mỗi giếng để ngừng phản ứng.
- Trộn nhẹ nhàng trong 30 giây, phải đảm bảo rằng màu xanh dương trong mẫu đã hoàn toàn chuyển sang màu vàng.
- Đọc độ hấp thụ tại bước sóng 450nm trong 15 phút.

#### **Lưu ý:**

- Không nên dùng hơn 32 giếng để chạy xét nghiệm.
- Việc hút mẫu chuẩn, mẫu bệnh phẩm, mẫu control chỉ thực hiện trong vòng 3 phút.
- Tất cả các mẫu chuẩn, mẫu bệnh phẩm, mẫu control nên chạy 2 lần trong cùng điều kiện xét nghiệm.
- Nên đọc kết quả trong 15 phút kể từ lúc cho dung dịch Stop Solution vào.

### **IV. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ**

- Tính toán độ hấp thụ trung bình tại bước sóng ( $\text{OD}_{450}$ ) khi chạy lặp lại 2 lần trên mẫu chuẩn, mẫu control và mẫu bệnh phẩm.
- Xây dựng đường cong chuẩn, vẽ đồ thị độ hấp thụ của mẫu chuẩn trên trục Y và nồng độ của chất chuẩn trên trục X.

- Sử dụng giá trị hấp thụ trung bình cho mỗi mẫu bệnh phẩm để xác định nồng độ tương ứng của HGH, đơn vị tính bằng ng/mL từ đường chuẩn.

**Giá trị mong đợi:**

- Mỗi phòng xét nghiệm phải xây dựng ngưỡng bình thường dựa trên sự tập hợp người bệnh. Ngưỡng bình thường của hormone tăng trưởng ở người rất khó xác định do những thay đổi sinh lý bất thường của hormone HGH. Hầu hết ở người trưởng thành sau một đêm nhịn đói thì mức độ của HGH trong huyết thanh là 7ng/mL hoặc thấp hơn. Những thay đổi của hormone HGH trong các phản ứng kích thích đưa ra sự đánh giá chính xác hơn về rối loạn chức năng tuyến yên.

**V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Không có mốc ảnh hưởng đối với xét nghiệm HGH có nồng độ  $\geq 1000$  ng/ml
- Các kết quả tin cậy và tái lập có được khi quy trình xét nghiệm được thực hiện theo các quy định trong “thực hành tốt trong xét nghiệm” và tuân thủ đóng gói theo hướng dẫn đi kèm.
- Các kết quả có được sử dụng để sẽ hỗ trợ cho các quy trình chuẩn đoán khác và cung cấp các thông tin có sẵn cho bác sĩ lâm sàng.
- Quy trình rửa rất quan trọng, nếu rửa không đủ sẽ cho kết quả không chính xác và đọc sai độ hấp thụ.

## **74. ĐO HOẠT ĐỘ GLDH (Glutamat dehydrogenase)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

GLDH xúc tác phản ứng chuyển  $\text{NH}_3$  cho  $\alpha$ -cetoglutarat với sự tham gia của NADH để tạo thành glutamat và NAD. Hoạt độ GLDH được đo bằng sự giảm mật độ quang của NADH được đo tại bước sóng 340 nm theo thời gian.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên của phòng xét nghiệm có nhiệm vụ nhận và kiểm tra chất lượng của mẫu bệnh phẩm bằng cách đối chiếu với các tiêu chuẩn loại bỏ và thực hiện phân tích theo phương pháp đã được xác định.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700
- Máy ly tâm
- Hóa chất làm xét nghiệm GLDH (hãng Randox)
- Huyết thanh kiểm tra mức 1 (QC mức bình thường)
- Huyết thanh kiểm tra mức 2 (QC mức bệnh lý)
- Chuẩn Randox
- Nước cất

#### **3. Người bệnh**

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Ghi đầy đủ thông tin cần thiết: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

### **II. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin, EDTA, oxalat, citrat.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Ly tâm ống máu trong 5 phút với vận tốc 3000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.
- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy Beckman Coulter.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.

- Kiểm soát chất lượng:

- + Hàng ngày: Chạy 2 mức kiểm QC tra chất lượng hàng ngày vào buổi sáng và ít nhất sau mỗi 8 tiếng. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức QC nằm trong khoảng cho phép.
- + Định kỳ: Chuẩn lại và chạy 2 mức QC sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

### **III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

#### **1. Giá trị tham chiếu**

Hoạt độ GLDH ở người lớn: Nam:  $\leq 5.0$  U/L

Nữ :  $\leq 7.0$  U/L

#### **2. Ý nghĩa lâm sàng**

GLDH đóng vai trò quan trọng trong chẩn đoán phân biệt bệnh của gan, đặc biệt khi kết hợp với aminotransferase. Sự tăng hoạt độ GLDH gặp trong bệnh gan có hoại tử tế bào gan nặng như bệnh gan thiếu oxy, tổn thương gan do nhiễm độc.

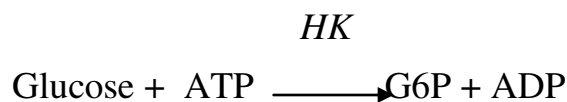
### **IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

## 75. ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE

### I. NGUYÊN LÝ

Glucose là carbohydrate quan trọng nhất lưu hành trong máu ngoại vi. Quá trình đốt cháy glucose là nguồn chính cung cấp năng lượng cho tế bào.

Glucose máu được định lượng theo phương pháp động học có sự tham gia của enzyim hexokinase:



Đo tốc độ tăng mật độ quang của NADPH ở bước sóng 340 nm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: buffer, NADP ...

R 2: HK, G6PDH...

Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>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 nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương. Bệnh phẩm phải được ly tâm tách lấy huyết thanh, huyết tương ngay. Bảo quản ở 15-25<sup>0</sup>C trong vòng 8 giờ, ở 2-8<sup>0</sup>C được 72 giờ. Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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 tủy thượng thận.
- + Cường giáp.

- Glucose máu giảm trong:

- + Suy tuyến yên, suy tuyến giáp.
- + Bệnh Insulinoma.
- + Thiếu dinh dưỡng.

### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**



| <b>Nguyên nhân</b>                                                        | <b>Sai sót</b>                             | <b>Xử trí</b>                                  |
|---------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Bệnh phẩm để lâu không ly tâm và định lượng ngay gây hiện tượng hủy đường | Làm giảm kết quả. Sau 1 giờ giảm khoảng 7% | Sử dụng chất chống đông NaF để tránh hủy đường |
| Lấy máu sau ăn                                                            | Làm tăng kết quả                           | Làm lại mẫu lúc đói                            |
| Bệnh phẩm tăng bilirubin, huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng thuốc   | Kết quả ảnh hưởng không rõ                 |                                                |
| Nồng độ > dải đo (0,11- 41,6 mmol/L)                                      | Sai lệch kết quả. Rất ít gặp               | Pha loãng bệnh phẩm                            |

## **76. ĐỊNH LƯỢNG GLOBULIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Định lượng Globulin trong máu của người bệnh bằng cách tính toán dựa trên thông số về định lượng Protein toàn phần và Albumin.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Protein toàn phần và Albumin, chất chuẩn Protein toàn phần và Albumin, chất kiểm tra chất lượng Protein toàn phần và Albumin.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin, EDTA, không sử dụng chất chống đông Fluorid. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 5 tháng ở 2-8°C, 2.5 tháng ở 15 - 25°C. 4 tháng ở -15 đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 01 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Protein và Albumin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Protein toàn phần và Albumin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Protein toàn phần và Albumin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- 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. Kết quả nếu không được máy tự động tính toán thì tính theo công thức sau:

Globulin = Protein toàn phần - Albumin

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 34 – 48 g/l.
- Globulin máu tăng trong: Các trường hợp viêm cấp hoặc mạn, Đa u tủy xương...
- Globulin máu giảm trong: Trường hợp suy giảm miễn dịch, Bỏng nặng...

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

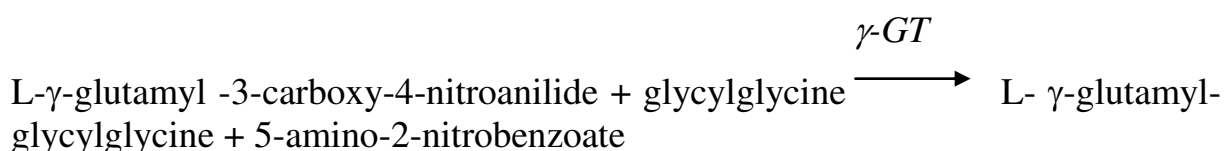
Là những sai sót có thể gặp phải khi định lượng Protein toàn phần và Albumin.

## 77. ĐO HOẠT ĐỘ GGT (Gamma glutamyl transpeptidase)

### I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ GGT cho phép phát hiện các người bệnh nghiện rượu (GGT tăng cùng với thiếu máu hồng cầu to và tăng acid uric), theo dõi tình trạng ứ mật, theo dõi tình trạng cai rượu ở người bệnh nghiện rượu. GGT được chỉ định phối hợp với phosphatase kiềm để xác định tăng phosphatase kiềm trong bệnh xương hay gan.

Hoạt độ của enzym GGT trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym. Theo phương trình phản ứng sau:



### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh của hãng Roche (MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).

- Máy ly tâm

- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.

- Pipét tự động các loại 1000μl, 500 μl, 100μl, 50 μl và 10 μl.

- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.

- Bông, cồn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.

- Bàn lấy máu.

- Găng tay

##### 2.2. Hoá chất

- Hoá chất làm xét nghiệm GGT của hãng ROCHE, OLYMPUS.

- Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

- Chuẩn của GGT

### **2.3. Bệnh phẩm**

- Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông

- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh

- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C và 1 năm 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 GGT trong máu.

### **III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH**

- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi giá trong chương trình cài đặt.
- 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 GGT được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.
- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

#### **1. Giá trị tham chiếu**

- Nam: 8 – 61 U/L

- Nữ: 5 – 36 U/L

#### **2. GGT máu có thể tăng trong các nguyên nhân chính sau đây**

- Bệnh lý gan, mật (viêm gan cấp và mạn, viêm gan nhiễm trùng, viêm gan do rượu, xơ gan, ung thư gan, vàng da ứ mật, thoái hóa mỡ xơ gan...)

- Các thâm nhiễm gan: tăng lipid máu, u lympho, kén sán lá gan, lao, bệnh sarcoidose, áp xe, ung thư di căn gan.
- Bệnh lý ứ mật: xơ gan do mật tiên phát, viêm đường mật xơ hóa, sỏi mật, ung thư biểu mô đường mật.
- Các tổn thương tụy tạng: Viêm tụy cấp, viêm tụy mạn, ung thư tụy, u bóng Vater.
- Các tổn thương thận: Hội chứng thận hư, ung thư biểu mô thận.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ**

- \* Khi thấy kết quả GGT bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:
  - + Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông đặc hoặc bất thường về màu sắc huyết tương hay không?
  - + Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán
  - + Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...
  - Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.
- \* Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:
  - Máu vỡ hồng cầu
  - Các chất có thể làm tăng hoạt độ GGT: Rượu, aminoglycosid, barbiturat, thuốc kháng H<sub>2</sub>, thuốc chống viêm không phải steroid, phenytoin, thuốc ngừa thai uống, thuốc chống trầm cảm.
  - Các thuốc có thể làm giảm hoạt độ GGT: Clofibrat.

## 78. ĐỊNH LƯỢNG GLP-1 TOÀN PHẦN

### (Total Glucagon-like peptid-1)

GLP-1 có tiền chất là proglucagon, có thời gian bán hủy dưới 2 phút. Nguồn chính của GLP-1 trong cơ thể là các tế bào *L* của ruột tiết GLP-1 như một hormone ruột. Nó là một hormone chống tăng đường huyết mạnh, như một phương pháp điều trị tiềm năng của bệnh đái tháo đường với các chức năng sinh lý sau: tăng tiết insulin từ tuyến tụy, giảm tiết glucagon từ tuyến tụy, tăng độ nhạy insulin trong cả hai tế bào alpha và beta, tăng khối lượng các tế bào beta và tiết insulin, ức chế tiết acid dạ dày đồ trong dạ dày, làm giảm lượng thức ăn bằng cách tăng cảm giác no trong não, thúc đẩy sự nhạy cảm insulin.

#### I. NGUYÊN LÝ

- Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng GLP-1 toàn phần trong huyết tương
- Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên - kháng thể theo **phương pháp sandwich**: Standard, control và mẫu được thêm vào các giếng đã được phủ với streptavidin. Sau đó, hỗn hợp kháng thể bắt giữ và kháng thể đánh dấu được thêm vào các giếng. Sau khi ủ, một phức hợp miễn dịch “sandwich” được hình thành là “Streptavidin-kháng thể bắt giữ -GLP-1-kháng thể đánh dấu” gắn chặt lên đĩa. Các thành phần không kết hợp sẽ được rửa đi. Để phát hiện được phức hợp miễn dịch này, cơ chất sẽ được thêm vào, rồi thêm dung dịch ngừng phản ứng vào. Độ đậm màu tỉ lệ thuận với nồng độ GLP-1 toàn phần trong mẫu, được đo ở bước sóng 450 nm.

#### II. CHUẨN BỊ

##### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh được đào tạo với máy Evolis Twin Plus.

##### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng DGR, Đức (EIA-5095)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Dung dịch hòa loãng kháng thể đánh dấu
- + Chuẩn: 5 lọ
- + Cơ chất TMB
- + Control cao và thấp

- + Dung dịch rửa
- + Kháng thể đánh dấu
- + Dung dịch ngừng phản ứng
- + Kháng thể bắt giữ

Trong đó TMB: 3,3',5,5' tetramethyl-benzidine

Kháng thể đánh dấu là kháng thể liên hợp HRP (Horseradish Peroxidase)

Kháng thể bắt giữ là kháng thể liên hợp biotin

- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp

+ Pipet chính xác 25  $\mu$ l, 50  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, và 1000  $\mu$ l

+ Các tube

+ Đầu côn pipet dùng một lần

+ Nước cất

+ Chất ức chế DPP - 4 ([dipeptidyl peptidase 4](#)): có tác dụng tăng GLP-1, giảm glucagon và lượng đường trong máu.

### 3. Người bệnh

Người bệnh lúc *đói và no ảnh hưởng* đến kết quả xét nghiệm (đói cho kết quả thấp hơn khi no)

### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

## III. Các bước tiến hành

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Sử dụng huyết tương chống đông bằng EDTA
- Khuyến cáo thêm một lượng thích hợp chất ức chế DPP-4 vào máu toàn phần EDTA đã thu thập. Đảo ngược ống để trộn đều và đặt ống vào bồn nước đá. Ly tâm ống 3000 vòng/phút trong 10 phút trên máy ly tâm lạnh.
- Mẫu nên được lưu trữ ở 2 - 8° C nếu được làm trong vòng 3 giờ từ khi thu thập, lâu hơn thì lưu trữ ở -70° C. Chỉ rã đông một lần.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### 2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.



### 2.1.1. Dung dịch rửa

Hòa 20 ml dung dịch rửa với 580 ml nước cất để được dung dịch 600 ml.

Sau khi pha, ổn định đến ngày hết hạn ở nhiệt độ phòng.

### 2.1.2. Chuẩn

- S1 – S5 với các nồng độ lần lượt : 0 pmol/L; 2,1 pmol/L; 6,0 pmol/L; 17,3 pmol/L; 54,0 pmol/L
- Ổn định đến ngày hết hạn khi bảo quản ở 2 – 8° C

### 2.1.3. Control

- Control mức thấp : 4,1 pmol/L và control mức cao: 13,7 pmol/L
- Ổn định đến ngày hết hạn khi bảo quản ở 2 – 8° C

## 2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng **1465 phút** (gần 25 giờ)
- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

\* Các bước tiến hành như sau:

+ Sử dụng số giếng cần thiết để vẽ đường cong chuẩn (S), control (C) và đo mẫu:

| Hàng | Dải 1 | Dải 2 | Dải 3 |
|------|-------|-------|-------|
| A    | S1    | S5    | Mẫu 2 |
| B    | S1    | S5    | Mẫu 2 |
| C    | S2    | C 1   | Mẫu 3 |
| D    | S2    | C 1   | Mẫu 3 |
| E    | S3    | C 2   | Mẫu 4 |
| F    | S3    | C 2   | Mẫu 4 |
| G    | S4    | Mẫu 1 |       |
| H    | S4    | Mẫu 1 |       |

+ Chuẩn bị hỗn hợp kháng thể GLP-1 toàn phần bằng cách trộn kháng thể đánh dấu với kháng thể bắt giữ (cả hai kháng thể đã pha loãng với dung dịch pha loãng kháng thể đánh dấu theo tỉ lệ 1:21)

Mỗi dải: trộn 1 ml dung dịch pha loãng kháng thể đánh dấu với 50  $\mu$ l kháng thể bất giữ và 50  $\mu$ l kháng thể đánh dấu vào tube sạch

- + Hút 100  $\mu$ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- + Hút 100  $\mu$ l hỗn hợp kháng thể cho tiếp vào các giếng.
- + Phủ giấy kín và ủ ở 2 – 8° C trong 20 – 24 giờ
- + Lấy giấy phủ ra, loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 5 lần với 350  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 200  $\mu$ l cơ chất TMB vào mỗi giếng.
- + Ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng
- + Hút 50  $\mu$ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng, trộn đều
- + Tiến hành đo với bước sóng kép 450/620 nm hoặc 450/650 nm trong 10 phút

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham khảo:

Khi đói: 0,3 - 18,5 pmol/L (nhịn tối thiểu 12h)

Khi ăn bình thường : 2,1 - 24,7 pmol/L

- Ý nghĩa lâm sàng: GLP-1 được ứng dụng trong điều trị và theo dõi bệnh đái tháo đường vì GLP-1 có tác dụng hạ đường huyết.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

*Có một số sai sót thường gặp:*

- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Mẫu có kết quả vượt quá 54 pmol/L thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch hòa loãng.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

## **79. ĐỊNH LƯỢNG GENTAMICIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Gentamicin là kháng sinh thuộc nhóm Aminoglycosid có tác dụng diệt khuẩn do ức chế quá trình sinh tổng hợp protein của vi khuẩn.

Gentamicin trong huyết thanh hoặc huyết tương được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang, là xét nghiệm một bước.

Mẫu bệnh phẩm, anti-gentamicin phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp gentamicin có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng. Anti-gentamicin phủ trên vi hạt thuận từ gắn với gentamicin có trong mẫu và chất kết hợp có đánh dấu acridinium.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng gentamicin trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Gentamicin, chất chuẩn Gentamicin, chất kiểm tra chất lượng Gentamicin.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Sodium EDTA (dùng cho ống nhựa). Nếu lấy máu bằng ống thủy tinh, có thể dùng các chất chống đông Li, Na-Heparin và K2-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ở 15 - 30°C, 7 ngày ở 2–8°C, bảo quản lâu hơn ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Gentamicin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Gentamicin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Gentamicin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Liều điều trị thường có nồng độ ở mức 5- 10 µg/mL.
- Nồng độ Gentamicin ở mức >10 µg/mL kéo dài, gây ngộ độc thần kinh và thận. Nếu sử dụng kết hợp với Aminoglycoside, khả năng ngộ độc sẽ tăng lên.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 20 mg/dL .
  - + Tán huyết: Hemoglobin <500 mg/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 3000 mg/dl.
  - + RF <634 IU/mL
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 80. ĐỊNH LƯỢNG HAPTOGLOBULIN

### I. NGUYÊN LÝ

Haptoglobin là mucoprotein thuộc nhóm globulin  $\alpha_2$ , có khả năng kết hợp với hemoglobin. Xét nghiệm haptoglobin thường chỉ định trong các bệnh nhiễm khuẩn, bệnh máu...

Haptoglobin trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp miễn dịch đo độ đục.

Kháng thể kháng Haptoglobin trong thuốc thử kết hợp với Haptoglobin trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ Haptoglobin có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Hitachi 904, 912, MODULAR P...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Haptoglobin, chất chuẩn Haptoglobin, chất kiểm tra chất lượng Haptoglobin.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin hay EDTA hay Citrat. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 8 tháng ở 2-8°C, 3 tháng ở 15°C đến 25°C.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Haptoglobulin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Haptoglobulin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Haptoglobulin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu: 3.0 - 20.0  $\mu\text{mol/L}$

Haptoglobulin được xét nghiệm chủ yếu để chẩn đoán và theo dõi thiếu máu do tan máu. Trong trạng thái bệnh lý này nồng độ Haptoglobulin trong máu giảm.

- Haptoglobin tăng trong: Nhiễm trùng cấp và mạn, Thấp khớp cấp, viêm phổi, sau nhồi máu cơ tim, có thai...
- Haptoglobin giảm trong: Thiếu máu tan máu, không có Haptoglobin bẩm sinh, chứng loạn nguyên hồng cầu ở trẻ sơ sinh, bệnh hồng cầu hình liềm, thiếu hụt enzym G6-PD, bệnh gan, lupus ban đỏ hệ thống....

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi:

- + Huyết thanh vàng : Bilirubin  $< 1026 \mu\text{mol/L}$
- + Huyết thanh đục: Triglycerid  $< 1000 \text{ mg/dL}$
- + Yếu tố thấp  $< 100 \text{ IU/mL}$
- + Không có hiệu ứng nồng độ cao khi Haptoglobin  $< 120 \mu\text{mol/L}$

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 81. ĐỊNH LƯỢNG HBsAg

### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng HBsAg trong huyết thanh hoặc huyết tương ngoài mục đích xác định tình trạng nhiễm HBsAg, nó còn đóng vai trò quan trọng trong việc theo dõi điều trị người bệnh bị viêm gan siêu vi B (kết hợp với kết quả PCR DNA định lượng).

Xét nghiệm định lượng HBsAg là xét nghiệm miễn dịch hai bước sử dụng công nghệ vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm linh hoạt để định lượng HBsAg trong huyết thanh và huyết tương người. Ở bước một HBsAg có trong mẫu thử gắn với các vi hạt phủ kháng thể kháng HBsAg. Sau khi rửa, chất kết hợp kháng thể kháng HBsAg có đánh dấu acridinium được cho vào ở bước hai. Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng HBsAg trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện. Nồng độ HBsAg trong mẫu được xác định bằng cách sử dụng đường cong chuẩn HBsAg đã được thiết lập trước đó.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** Bác sĩ và cử nhân xét nghiệm được đào tạo vận hành máy Architect.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

- Máy Architect ir1000

- Ống nghiệm (EDTA, sodium heparin, lithium heparin ), ống không dùng chất chống đông.

##### **2.2. Hóa chất**

Bộ thuốc thử, 100 test ARCHITECT HBsAg

- CÁC VI HẠT: 1 chai (6,6 mL) Anti- HBsAg (chuột, kháng thể đơn dòng, IgM, IgG) phủ vi hạt trong dung dịch đệm MES với chất ổn định protein. Nồng độ tối thiểu: 0,0675% rắn.
- CHẤT KẾT HỢP: 1 chai (5,9 mL) Anti-HBsAg có đánh dấu acridinium (Dê,IgG) trong dung dịch đệm MES với chất ổn định protein (bò và huyết tương người) không có phản ứng với HBsAg, HIV-1 RNA hay anti-HIV-1/ HIV-2 và anti-HCV. Nồng độ tối thiểu: 0,25µg/mL.

- DUNG DỊCH HÒA LOÃNG: 1 chai (100 mL). Chất pha loãng xét nghiệm chứa huyết tương người đã tái tạo canxi không có phản ứng với HBsAg, HIV-1 RNA hay anti-HIV-1/ HIV-2 và anti-HCV.

### **3. Người bệnh**

- Những người bệnh nghi ngờ nhiễm virus viêm gan B.
- Người tình nguyện hiến máu, kiểm tra sức khỏe.
- Theo dõi tình trạng nhiễm HBsAg người bệnh

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Thông nhất theo mẫu quy định của bệnh viện và Bộ Y tế.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Bệnh phẩm**

#### **1.1. Loại mẫu**

- Huyết thanh, Huyết tương (potassium EDTA, sodium citrate)
- Các chất chống đông lỏng có thể gây pha loãng dẫn đến làm nồng độ mẫu người bệnh thấp.

#### **1.2 Điều kiện mẫu**

- Không sử dụng các mẫu sau: bị bất hoạt do nhiệt, bị tán huyết.
- Để có kết quả xác thực: mẫu huyết thanh và huyết tương không nên có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả. Đối với những mẫu mới đã đông nên chuyển mẫu sang ống ly tâm và ly tâm ở  $\geq 10.000$  RCF (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cup đựng mẫu để chạy xét nghiệm.
- Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.

#### **1.3. Bảo quản**

Mẫu có thể được bảo quản 14 ngày ở nhiệt độ 2-8°C trước khi xét nghiệm. Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 14 ngày, tách huyết thanh hay huyết tương sang cup có nắp đậy và bảo quản đông lạnh ở  $\leq -20^{\circ}\text{C}$ .

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT HBsAg vào máy Architect.
- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.



- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đầy lại.
- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

#### *Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng*

- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng HBsAg ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.
- Yêu cầu về lượng mẫu của mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng ARCHITECT HBsAg, giữ chai theo chiều thẳng đứng và nhỏ 10 giọt mẫu chuẩn (hai lần chạy lặp lại) hay 6 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng (cho một lần chạy lặp lại) vào từng cốc đựng mẫu tương ứng.
- Khoảng hiệu chuẩn: 0 - 250 IU/mL. Khi đường cong chuẩn ARCHITECT HBsAg được chấp nhận và lưu lại, không cần thực hiện hiệu chuẩn cho tất cả các mẫu xét nghiệm sau đó, trừ khi:
  - + Sử dụng lô thuốc thử mới.
  - + Mẫu kiểm tra chất lượng cho kết quả nằm ngoài giới hạn.
- Nạp mẫu và nhấn nút RUN.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Định lượng HBsAg trong huyết thanh hoặc huyết tương ngoài mục đích xác định tình trạng nhiễm HBsAg, nó còn đóng vai trò quan trọng trong việc theo dõi điều trị người bệnh bị viêm gan siêu vi B (kết hợp với kết quả PCR DNA định lượng)

- Mẫu với nồng độ có giá trị  $< 0,05$  IU/mL được xem là không có phản ứng.
- Mẫu với nồng độ có giá trị  $\geq 0,05$  IU/mL được xem là có phản ứng
- Nếu nồng độ HBsAg  $> 250$  IU/mL thì cần phải pha loãng. Dùng dung dịch pha loãng riêng dành cho xét nghiệm định lượng HBsAg.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Nếu kết quả xét nghiệm HBsAg không phù hợp với các dấu hiệu lâm sàng thì cần làm thêm xét nghiệm để khẳng định kết quả.
- Vì mục đích chẩn đoán, sử dụng kết quả kết hợp với tiền sử bệnh và các dấu ấn viêm gan khác để chẩn đoán tình trạng nhiễm cấp hay mãn tính.
- Mẫu lấy từ người bệnh dùng thuốc chống đông hay tan huyết khối có thể làm tăng thời gian hình thành cục máu đông. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả.
- Mẫu máu từ người bệnh có điều trị heparin có thể bị đông máu từng phần và sự xuất hiện của fibrin có thể dẫn đến sai số. Để tránh trường hợp này, nên lấy máu trước khi dùng liệu pháp heparin.

## **82. ĐO HOẠT ĐỘ HBDH ( Hydroxybutyrat dehydrogenase)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

HBDH xúc tác phản ứng thuận nghịch khử 2-oxobutyrat bởi NADH thành 2-hydroxybutyrat, sự giảm nồng độ NADH được đo ở bước sóng 340nm và tỷ lệ thuận với hoạt độ HBDH trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700
- Máy ly tâm
- Hóa chất làm xét nghiệm Lactat (hãng Olympus )
- Huyết thanh kiểm tra mức 1 (QC mức bình thường)
- Huyết thanh kiểm tra mức 2 (QC mức bệnh lý)
- Chuẩn Olympus System Calibrator Cat No.66300
- Nước cất

#### **3. Người bệnh**

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Ghi đầy đủ thông tin cần thiết: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết tương chống đông bằng heparin hoặc huyết thanh.
- Mẫu ổn định: ổn định trong 4 ngày khi bảo quản tại 2 đến 8°C và 7 ngày khi bảo quản tại 15 đến 25°C.
- Không sử dụng mẫu huyết tán.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Ly tâm ống máu trong 5 phút với vận tốc 3000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.

- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy Beckman Coulter.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:

+ Hàng ngày: Chạy 2 mức kiểm QC tra chất lượng hàng ngày vào buổi sáng và ít nhất sau mỗi 8 tiếng. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức QC nằm trong khoảng cho phép.

+ Định kỳ: Chuẩn lại và chạy 2 mức QC sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy xét nghiệm.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Giá trị tham chiếu**

Hoạt độ HBDH người lớn: 90- 180 U/L

##### **2. Ý nghĩa lâm sàng**

Hoạt độ HBDH, tỷ lệ LDH/HBDH được xem như phương pháp thay thế cho đánh giá các isoenzym của LDH. Người bình thường, tỷ lệ LDH/HBDH giao động từ 1.2- 1.6. Trong nhồi máu cơ tim, hoạt độ LDH-1 và LDH-2 tăng, dẫn đến giảm tỷ lệ LDH/HBDH còn từ 0.8- 1.2. Người bệnh có tổn thương các mô làm tăng LDH5 sẽ làm tỷ lệ LDH/HBDH tăng từ 1.6- 2.5.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.**

Mẫu huyết tán làm kết quả tăng giả tạo.

## **83. ĐỊNH LƯỢNG HbA1c (Hemoglobin A1c)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Hemoglobin (Hb) là protein có cấu trúc bậc bốn hoàn chỉnh của hồng cầu. Hb có chức năng vận chuyển oxy từ phổi tới tổ chức và  $\text{CO}_2$  từ tổ chức tới phổi. Nồng độ glucose của hồng cầu cũng tương đương với nồng độ glucose trong huyết tương của máu. Khi nồng độ glucose máu tăng cao hơn mức bình thường trong một khoảng thời gian đủ dài, glucose sẽ kết hợp với hemoglobin gọi là phản ứng glycosyl hoá (hay Glycosylated Haemoglobin). Nhóm aldehyd tự do của phân tử glucose kết hợp với phân tử Hb của hồng cầu thông qua Valin (một amino acid ở phần cuối của chuỗi beta) tạo ra sản phẩm trung gian là Aldimin, sau đó Aldimin sẽ được chuyển thành HbA1c theo sự chuyển Amadori không đảo ngược. Đường đơn trong máu chủ yếu là glucose do vậy thành phần chủ yếu của HbA1 là HbA1c (70%). Do vậy HbA1c có giá trị chuyên biệt hơn HbA1a1, HbA1a2, HbA1b nói riêng và HbA1 nói chung. Tình trạng gắn kết này sẽ thể hiện trong suốt đời sống của hồng cầu.

#### **Nguyên lý định lượng HbA1c:**

Dựa trên nguyên lý sắc ký lỏng áp lực cao (HPLC) .

Gồm- Pha tĩnh: là chất rắn

- Pha động là chất lỏng di chuyển dưới tác động của áp suất cao.
- Mẫu phân tích: Được hòa tan trong pha động

Dựa vào ái lực khác nhau giữa các chất cần xác định với pha tĩnh và pha động mà chúng được tách nhau ra nhờ thay đổi độ phân cực của dung môi pha động cùng với cột tách thích hợp việc định lượng được thực hiện nhờ phương pháp ngoại chuẩn (so sánh mẫu với mẫu thêm chuẩn đã biết hàm lượng trong cùng điều kiện phân tích. Đây là phương pháp hữu hiệu trong định lượng các chất hữu cơ có nhiệt phân hủy thấp)

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

Một số máy phân tích HbA1c tự động theo nguyên lý HPLC: máy Utral 2, máy D10, máy variant (Hoa kỳ sản xuất) và một số máy khác.

##### **2.2. Hóa chất**

- Gồm: dung dịch 2A; Dung dịch B; dung dịch pha loãng, dung dịch rửa, peek column-HbA1c, fit, 2 micron, 5/μk cho GH,
- Vật liệu cho QC: gồm 2 mức: thấp và cao

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm có chất chống đông EDTA
- Găng tay
- Bông, cồn sát trùng, dây garo
- Bơm tiêm hoặc kim lấy máu

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm. Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Có y lệnh của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Không có quy định nghiêm ngặt về thời điểm lấy máu (lúc no, lúc đói đều được).
- Lấy khoảng 2 mL máu toàn phần vào ống có chất chống đông EDTA.
- Bảo quản máu để làm xét nghiệm đơn giản và được lâu (ở nhiệt độ 2- 8°C có thể bảo quản được một tuần).

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

Dựng đường chuẩn

Phân tích QC: ở cả 2 level. Khi QC đạt, tiến hành phân tích mẫu.

#### **2.2. Phân tích mẫu**

Mẫu máu toàn phần được trộn đều đặt vào Rack đựng bệnh phẩm. dùng mã vạch (barcode) hoặc đánh số (hoặc ID của người bệnh); vận hành theo protocol của máy và máy sẽ tự động phân tích

## **III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị bình thường của HbA<sub>1c</sub> là 4- 6 % (tăng khi > 6,5% ).
- Tỷ lệ tương đối giữa trị số HbA<sub>1c</sub>, nồng độ glucose và Fructosamine máu

| <b>HbA1c</b> | <b>Glucose máu</b> | <b>Fructosamine</b> |
|--------------|--------------------|---------------------|
| %            | (mmol/L)           | ( $\mu$ mol/L)      |
| 4            | 3,3                | 141                 |
| 5            | 5,0                | 200                 |
| 6            | 6,7                | 258                 |
| 7            | 8,3                | 317                 |
| 8            | 10,0               | 375                 |
| 9            | 11,7               | 435                 |
| 10           | 13,3               | 494                 |
| 11           | 15,0               | 552                 |
| 12           | 16,7               | 611                 |
| 13           | 18,3               | 670                 |
| 14           | 20,0               | 729                 |

#### **IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- HbA1c có thể “tăng giả”

PreHbA1c; HbF; Hội chứng ure máu cao (cơ chế: do Hb bị carbamyl hóa);...

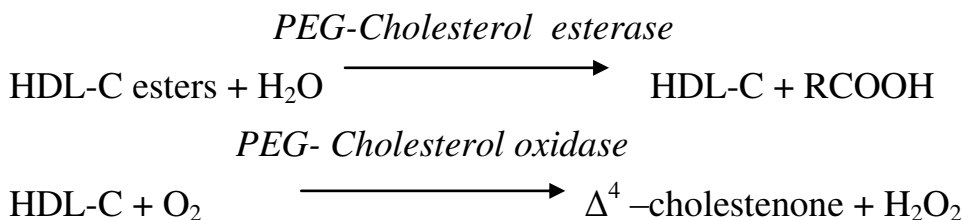
- HbA1c có thể “giảm giả”

Các bệnh làm giảm đời sống HC: huyết tán (tan máu); Thiếu máu mạn hoặc cấp; Xuất huyết tiêu hoá, sau trích máu điều trị; Nhiễm sắc tố sắt; Hemoglobine bất thường (VD: HbH, HbS, HbD, HbE, HbC)...

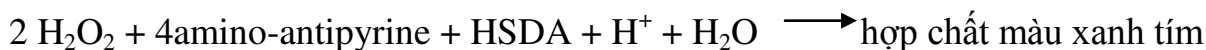
## 84. ĐỊNH LƯỢNG HDL-C

**I. NGUYÊN LÝ:** HDL-C (High Density Lipoprotein cholesterol) là thành phần vận chuyển cholesterol từ máu về gan. Nồng độ HDL-C máu có liên quan đến nguy cơ mắc chứng xơ vữa động mạch. Làm tăng nồng độ HDL là góp phần điều trị bệnh lý tim mạch.

HDL-C được định lượng theo phương pháp enzyme so màu



*Peroxidase*



*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<sup>0</sup>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 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  $2-8^{\circ}\text{C}$  trong vòng 7 ngày, ở  $-60^{\circ}\text{C}$  được 1 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.

**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:  $\geq 0,9 \text{ mmol/L}$
- 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 ( $0,08-3,12 \text{ mmol/L}$ )                                    | Sai lệch kết quả        | Pha loãng bệnh phẩm        |



## **85. ĐỊNH LƯỢNG HE4 (Human Epididymal protein 4)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

HE4 là protein mào tinh người, nó là glycoprotein có trọng lượng phân tử 11 kD. Nồng độ HE4 tăng cao trong máu người bệnh ung thư buồng trứng.

HE4 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. HE4 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng HE4 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng HE4 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ HE4 có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm HE4, chất chuẩn HE4, chất kiểm tra chất lượng HE4.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có chứa Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông Li-Heparin, K2 và K3 EDTA. Nếu bệnh phẩm được phân tích trên máy Architect thì yêu cầu sử dụng huyết thanh.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hay huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 5 giờ ở 15 - 25°C, 48 giờ ở 2-8°C, 3 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm HE4. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm HE4. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm HE4 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Bình thường, ở phụ nữ HE4 có giá trị như sau:

<40 tuổi: <60.5 pmol/L

40 – 49 tuổi: <76.2 pmol/L

50 – 59 tuổi: <74.3 pmol/L

60 -69 tuổi: < 82.9 pmol/L

>70 tuổi: < 104 pmol/L

HE4 tăng trong ung thư buồng trứng và tăng sớm hơn CA 125. HE4 cũng được sử dụng để theo dõi điều trị và là chỉ thị sớm và quan trọng trong sự tái phát của bệnh.

Ngoài ra còn sử dụng giá trị HE4 và CA 125 định lượng được để tính PI (Chỉ số tiên đoán) và ROMA (Xác suất tiên đoán) để phân tầng nguy cơ cho người bệnh.

Tính PI theo công thức:

Tiền mãn kinh:  $PI = -12.0 + 2.38 * \ln[HE4] + 0.0626 * \ln[CA125]$

Sau mãn kinh:  $PI = -8.09 + 1.04 * \ln[HE4] + 0.732 * \ln[CA125]$

trong đó, LN = Logarithm tự nhiên. Không sử dụng LOG = Log10.

Tính ROMA theo công thức:

$$ROMA (\%) = \exp(PI) / [1 + \exp(PI)] * 100$$

trong đó,  $\exp(\text{PI}) = \text{ePI}$

**Lưu ý:** Các công thức này được sử dụng để tính toán giá trị ROMA với xét nghiệm Elecsys HE4 từ 28.8-3847 pmol/L và với xét nghiệm Elecsys CA 125 II từ 6.42-5000 U/mL.

Dựa trên giá trị ROMA, phân tầng nguy cơ cho người bệnh như sau:

Phụ nữ tiền mãn kinh

Giá trị ROMA  $\geq 11.4\%$  = nguy cơ cao ung thư buồng trứng

Giá trị ROMA  $< 11.4\%$  = nguy cơ thấp ung thư biểu mô buồng trứng

Phụ nữ sau mãn kinh

Giá trị ROMA  $\geq 29.9\%$  = nguy cơ cao ung thư buồng trứng

Giá trị ROMA  $< 29.9\%$  = nguy cơ thấp ung thư biểu mô buồng trứng

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin  $< 66 \text{ mg/dL}$  hay  $1130 \mu\text{mol/L}$ .

+ Tán huyết: Hemoglobin  $< 1.0 \text{ g/dl}$ .

+ Huyết thanh đục: Triglyceride  $< 2000 \text{ mg/dl}$ .

+ Biotin  $< 50 \text{ ng/ml}$ . trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều  $> 5 \text{ mg/ngày}$  cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ sFlt-1 tới  $40\,000 \text{ pmol/L}$ .

+ RF  $< 1500 \text{ IU/mL}$

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 86. ĐỊNH LƯỢNG HOMOCYSTEIN

Homocystein (Hcy) là một acid amin chứa gốc sulfur được hình thành trong quá trình chuyển đổi methiomin thành cystein - Methionin là một trong các acid amin thiết yếu (acid amin không thay thế) không tự tổng hợp được mà phải lấy từ nguồn thức ăn. Methionin và Hcy tích lũy lại trong cơ thể dẫn đến nồng độ Hcy trong máu và nước tiểu tăng cao. Người bệnh có Hcy niệu có thể có biến dạng xương, bệnh lý ở mắt, chậm phát triển tinh thần, gan thoái hóa mỡ. Có nguy cơ cao bị huyết khối tĩnh mạch, vỡ xơ động mạch và dễ bị các bệnh tim mạch.

### I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên nguyên lý miễn dịch sử dụng công nghệ hóa phát quang. Để xác định nồng độ Hcy toàn phần trong huyết thanh/huyết tương theo phản ứng miễn dịch một bước. Kết quả phản ứng phát quang xảy ra, cường độ ánh sáng thu được tỷ lệ với nồng độ Homocystein có trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 kỹ thuật viên.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Các máy có thể phân tích: architect I 2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, ống sample cup
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

##### 2.2. Hóa chất

- Vi hạt: 1 hoặc 4 lọ x 5 mL Kháng thể -S-adenosyl L-homocysteine được bao phủ trên bề mặt các vi hạt trong dung dịch đệm Bis-Tris buffer. Nồng độ tối thiểu: 0.1% solids; Chất bảo quản: sodium azide và các tác nhân kháng khuẩn khác.
- Conjugate: 1 hoặc 4 lọ x 5.7 mL S-adenosyl-L-cysteine (SAC) acridinium-được đánh dấu được gắn trên bề mặt trong dung dịch đệm citrate Nồng độ tối thiểu: 1 ng/mL và Chất bảo quản: ProClin 300.

- Enzym: 1 hoặc 4 lọ x 8.6 mL Recombinant S-adenosyl-L homocysteine hydrolase (SAHHase) in 4-(2-hydroxyethyl) piperazine- propane sulfonic acid (EPPS) buffer. Chất bảo quản: sodium azide.
- Reductant: 1 hoặc 4 lọ x 21.5 mL Dithiothreitol (DTT) trong dung dịch đệm citrate. Dung dịch hòa loãng chứa 100mL.
- ARCHITECT i Multi-Assay Manual Diluent có chứa dung dịch đệm phosphat. Chất bảo quản: các tác nhân kháng khuẩn.

Các loại thuốc thử, hóa chất khác:

- ARCHITECT i Pre-Trigger Solution: Pre-trigger solution có chứa 1.32% hydrogen peroxide.
- ARCHITECT i Trigger Solution: có chứa 0.35 N sodium hydroxide.
- ARCHITECT I wash bufer: Wash buffer có chứa đệm phosphate. Chất bảo quản: là các tác nhân kháng khuẩn.

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm
- Găng tay, dây garo
- Bông, cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm. Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Có y lệnh của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

1. **Lấy bệnh phẩm:** 3ml máu tĩnh mạch lấy vào ống chống đông Lithium - heparin.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

Dựng đường chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

#### **2.2. Phân tích mẫu**

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2giờ

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và vận hành theo protocol của máy

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **\*Trị số bình thường**

Nam: 7,4 – 15,7  $\mu\text{mol/L}$  (1-2,12mg/L)

Nữ: 3,9 – 14,8  $\mu\text{mol/L}$  (0,53 – 2mg/L)

##### **\*Tăng**

- Yếu tố nguy cơ mắc bệnh tim mạch
- Đái Hcy bẩm sinh
- Hút thuốc lá
- Thiếu hụt các vitamin B<sub>6</sub>; B<sub>12</sub>; acid folic

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **Các yếu tố gây nhiễu**

- Trị số Hcy có thể tăng ở người có tuổi và hút thuốc
- Một số thuốc có thể làm tăng nồng độ Hcy như: carbamafepin, cycloserin, Methotrexat, Penicillamin, Phenytoin, Procarbafin.

## 87. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN- 1 $\alpha$ (IL-1 $\alpha$ )

### I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm miễn dịch IL-1 $\alpha$  dựa trên nguyên lý “sandwich” hóa phát - quang miễn dịch nhằm mục đích tìm nồng độ IL-1 $\alpha$  trong huyết thanh và huyết tương người

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** Người thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

**2. Phương tiện, hóa chất**

**Bộ kit bao gồm**

|   |                                          |             |
|---|------------------------------------------|-------------|
| - | CTK DIL ASY                              | 1 x 14ml    |
| - | CTK CONJ                                 | 1 x 20 ml   |
| - | CTK BIOCHIP                              | 54 biochips |
| - | CTK CAL                                  | 9 x 1ml     |
| - | REAG SGNL-EV701                          | 2 x 10 ml   |
| - | BUF WASH (conc.)                         | 1 x 32 ml   |
| - | Calibrator concentration Disc và Barcode | 1           |

**3. Người bệnh:** Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:** Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm là huyết thanh hoặc huyết tương không tiêu huyết
- Việc lấy mẫu được thực hiện theo đúng hướng dẫn và đúng ống đựng mẫu, không rò rỉ hoặc thấm ra ngoài
- Những mẫu cần pha loãng phải được pha với dung dịch đệm rửa
- Nếu mẫu không được xét nghiệm ngay, cần phải bảo quản ở -20 $^{\circ}$ C từng phần nhỏ, tránh rã đông nhiều lần

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Độ nhạy của máy là 0.8 pg/ml. với độ nhạy này thì nồng độ thấp nhất cho phép là  $\leq 20\%$  cho 20 lần lặp lại.
- Khoảng phát hiện của phép thử: 0-500pg/ml. Tuy nhiên có thể thay đổi tùy vào lô chất hiệu chuẩn
- Ngoại kiểm tra: Lặp lại 20 lần cho một mẫu bệnh phẩm ở 3 mức nồng độ khác nhau (n=20)

| Nồng độ (pg/ml) | Level 1 | Level 2 | Level 3 |
|-----------------|---------|---------|---------|
| Mean            | 4.9     | 105     | 339     |
| % CV            | 9.7     | 7.7     | 6.8     |

- Nội kiểm tra chất lượng: Lặp lại 2 lần cho một mẫu bệnh phẩm ở 3 mức nồng độ khác nhau cho 10 xét nghiệm khác nhau (n=20)

| Nồng độ (pg/ml) | Level 1 | Level 2 | Level 3 |
|-----------------|---------|---------|---------|
| Mean            | 4       | 76      | 277     |
| % CV            | 10.7    | 5.9     | 7.3     |

- Các bước thực hiện:
- + Hút 200 ul dung dịch pha loãng vào mỗi giếng
- + Hút 100 ul dung dịch chuẩn, mẫu và chứng vào các giếng thích hợp
- + Hòa trộn dung dịch bằng cách gõ nhẹ vào các cạnh của đĩa
- + Đặt đĩa vào để ủ lắc nhiệt. Ủ ở 37°C trong vòng 1 giờ và lắc 370 vòng/phút
- + Lấy khay chứa khỏi máy lắc. Loại bỏ dịch thừa
- + Rửa nhanh 2 lần với dung dịch đệm rửa khoảng 350 ul cho mỗi giếng, tránh nhiễm chéo giữa các giếng và dùng giấy thấm để thấm khô sau khi rửa
- + Hút 300 ul dung dịch conjugate vào mỗi giếng
- + Gõ nhẹ vào các cạnh của khay chứa để hòa trộn dung dịch
- + Đặt khay vào máy lắc nhiệt, Ủ trong vòng 1 giờ ở 37°C với tốc độ lắc 370 vòng/ phút
- + Sau đó, lấy khay ra khỏi máy lắc và loại bỏ dịch thừa
- + Lặp lại rửa 2 lần như trên
- + Sau khi rửa, làm đầy giếng với dung dịch đệm rửa và để cho thấm không quá 30 phút trước khi chụp hình

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

IL-1 $\alpha$  thường ít được phát hiện ngoại trừ bệnh nghiêm trọng khi các cytokines được giải phóng từ các tế bào chết. Mức độ IL-1 $\alpha$  tương quan đến mức độ trầm trọng của các bệnh viêm đường ruột, nhiễm trùng huyết...

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Đây là phương pháp dùng trong nghiên cứu, không dùng trong chẩn đoán.
- Phương pháp điều tra dấu chứng Interleukin-1 $\alpha$  chỉ sử dụng trong phân tích mẫu huyết thanh và huyết tương người. Do đó những phân tích trên chất khác sẽ cho kết quả không chính xác (ví dụ như lỗi kỹ thuật hay lỗi phương pháp)
- Ảnh hưởng của Bilirubin, Hemoglobin, Triglycerides và Lipids gây nhiễu nồng độ IL-1 $\alpha$  và là nguyên nhân tăng hay giảm đường biểu diễn nồng độ trên biểu đồ.



## 88. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN- I $\beta$ (IL-I $\beta$ )

### I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm miễn dịch IL-I $\beta$  dựa trên nguyên lý “sandwich” hóa phát - quang miễn dịch nhằm mục đích tìm nồng độ IL-I $\beta$  trong huyết thanh và huyết tương người

### II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** Người thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

2. **Phương tiện, hóa chất:**

**Bộ kit bao gồm**

|                                            |             |
|--------------------------------------------|-------------|
| - CTK DIL ASY                              | 1 x 14ml    |
| - CTK CONJ                                 | 1 x 20 ml   |
| - CTK BIOCHIP                              | 54 biochips |
| - CTK CAL                                  | 9 x 1ml     |
| - REAG SGNL-EV701                          | 2 x 10 ml   |
| - BUF WASH (conc.)                         | 1 x 32 ml   |
| - Calibrator concentration Disc và Barcode | 1           |

3. **Người bệnh:** Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm.

4. **Phiếu xét nghiệm:** Có y lệnh của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm là huyết thanh hoặc huyết tương không tiêu huyết
- Việc lấy mẫu được thực hiện theo đúng hướng dẫn và đúng ống đựng mẫu, không rò rỉ hoặc thấm ra ngoài
- Những mẫu cần pha loãng phải được pha với dung dịch đệm rửa
- Nếu mẫu không được xét nghiệm ngay, cần phải bảo quản ở -20<sup>0</sup>C từng phần nhỏ, tránh rã đông nhiều lần

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Độ nhạy của máy là 1.6 pg/ml. với độ nhạy này thì nồng độ thấp nhất cho phép là  $\leq 20\%$  cho 20 lần lặp lại.
- Khoảng phát hiện của phép thử: 0-250 pg/ml. Tuy nhiên có thể thay đổi tùy vào lô chất hiệu chuẩn
- Ngoại kiểm tra: Lặp lại 20 lần cho một mẫu bệnh phẩm ở 3 mức nồng độ khác nhau (n=20)

| Nồng độ (pg/ml) | Level 1 | Level 2 | Level 3 |
|-----------------|---------|---------|---------|
| Mean conc       | 10.6    | 139     | 406     |
| % CV            | 8.2     | 6.3     | 6.7     |

- Nội kiểm tra chất lượng: Lặp lại 2 lần cho một mẫu bệnh phẩm ở 3 mức nồng độ khác nhau cho 10 xét nghiệm khác nhau (n=20)

| Nồng độ (pg/ml) | Level 1 | Level 2 | Level 3 |
|-----------------|---------|---------|---------|
| Mean conc       | 3.9     | 50.3    | 142     |
| % CV            | 13.1    | 7.3     | 7       |

- Các bước thực hiện:
- + Hút 200 ul dung dịch pha loãng vào mỗi giếng
- + Hút 100 ul dung dịch chuẩn, mẫu và chứng vào các giếng thích hợp
- + Hòa trộn dung dịch bằng cách gõ nhẹ vào các cạnh của đĩa
- + Đặt đĩa vào để ủ lắ nhiệt. Ủ ở 37<sup>0</sup>C trong vòng 1 giờ và lắ 370 vòng/phút
- + Lấy khay chứa khỏi máy lắ. Loại bỏ dịch thừa
- + Rửa nhanh 2 lần với dung dịch đệm rửa khoảng 350 ul cho mỗi giếng, tránh nhiễm chéo giữa các giếng và dùng giấy thấm để thấm khô sau khi rửa
- + Hút 300 ul dung dịch conjugate vào mỗi giếng
- + Gõ nhẹ vào các cạnh của khay chứa để hòa trộn dung dịch
- + Đặt khay vào máy lắ nhiệt, Ủ trong vòng 1 giờ ở 37<sup>0</sup>C với tốc độ lắ 370 vòng/phút
- + Sau đó, lấy khay ra khỏi máy lắ và loại bỏ dịch thừa
- + Lặp lại rửa 2 lần như trên
- + Sau khi rửa, làm đầy giếng với dung dịch đệm rửa và để cho thấm không quá 30 phút trước khi chụp hình

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

IL-1 $\beta$  được chứng minh ngăn cản việc tiết insulin và giảm hàm lượng insulin và glucagons do đó đóng vai trò quan trọng trong phát triển bệnh tiểu đường type I

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Đây là phương pháp dùng trong nghiên cứu, không dùng trong chẩn đoán
- Phương pháp điều tra dấu chứng Interleukin IA chỉ sử dụng trong phân tích mẫu huyết thanh và huyết tương người. Do đó những phân tích trên chất khác sẽ cho kết quả không chính xác (ví dụ như lỗi kỹ thuật hay lỗi phương pháp)
- Ảnh hưởng của Bilirubin, Hemoglobin, Triglycerides và Lipids gây nhiễu nồng độ IL-1 $\alpha$  và là nguyên nhân tăng hay giảm đường biểu diễn nồng độ trên biểu đồ.

## 89. ĐỊNH LƯỢNG INTERLEUKIN 6

### I. NGUYÊN LÝ

Interleukin 6 (IL-6) có nguồn gốc từ một số tổ chức: do các tế bào T và đại thực bào sản xuất để kích thích phản ứng miễn dịch; IL-6 được tổ chức cơ tiết ra và có thể tăng lên đáp ứng với sự co cơ. Ngoài ra, IL 6 có nguồn gốc từ các nguyên bào xương để kích thích tế bào hủy xương hình thành và từ các mạch máu cũng sản xuất IL-6 như một yếu tố tiền viêm cytokine. IL 6 có chức năng như một tiền viêm (các phản ứng giai đoạn cấp tính) và chống viêm cytokine, đóng một vai trò trong chống nhiễm trùng. Cơ chế hoạt động của IL-6 như là một cytokine chống viêm trung gian thông qua tác dụng ức chế trên TNF-alpha và IL-1, kích hoạt của IL-1RA và IL-10.

Theo nguyên lý miễn dịch kiểu Sandwich. Phương pháp điện hóa phát quang (ECLIA). Tổng thời gian của phản ứng 18 phút.

- Thời gian ủ đầu tiên: mẫu bệnh phẩm được ủ với kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng IL-6 đã được đánh dấu biotin.
- Thời gian ủ thứ hai: Sau khi thêm kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng IL-6 được đánh dấu phức hợp ruthenium và các vi hạt phủ streptavidin, kháng thể tạo thành phức hợp bắt cặp với kháng nguyên của mẫu.
- Hỗn hợp phản ứng được chuyển tới buồng đo, ở đó các vi hạt đôi từ được bắt giữ trên bề mặt của điện cực. Những thành phần không gắn kết sẽ bị thải ra ngoài buồng đo bởi dung dịch ProCell/ProCell M. Một dòng điện một chiều cho vào điện cực sẽ tạo nên sự phát quang hóa học được đo bằng bộ khuếch đại quang tử.

Kết quả được tính toán dựa vào đường cong chuẩn thu được bằng cách chuẩn 2 điểm và đường cong gốc được cung cấp từ nhà sản xuất. Nồng độ chất cần định lượng tỷ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được.

### II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh miễn dịch và 01 kỹ thuật viên

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

Các máy phân tích miễn dịch như: elecys, các máy cobas e

##### 2.2. Hóa chất

a) Tris (2,2'-bipyridyl) ruthenium(II)-complex (Ru(bpy)<sub>2</sub><sup>2+</sup>)

+ M : Vi hạt phủ Streptavidin (nắp trong), 1 chai, 6.5 mL: Vi hạt phủ Streptavidin 0.72

mg/mL; chất bảo quản.

+ R1: Anti-IL-6~biotin (nắp màu xám), 1 chai, thể tích 9 mL:

Kháng thể đơn dòng kháng IL-6 đánh dấu biotin 0.9 µg/mL; đệm phosphate 95 mmol/L, pH 7.3; chất bảo quản.

+ R2: Anti-IL-6~Ru(bpy)<sub>2</sub><sup>+</sup> (nắp đen), 1 chai, thể tích 9 mL: Kháng thể đơn dòng kháng IL-6 đánh dấu phức hợp ruthenium 1.5 µg/L; đệm phosphate 95 mmol/L, pH 7.3; chất bảo quản.

Đặt hộp thuốc thử Elecsys IL-6 theo hướng thẳng đứng nhằm đảm bảo tính hữu dụng của toàn bộ các vi hạt trong khi trộn tự động trước khi sử dụng.

+ Procell

+ Clean cell

+ Dung dịch chuẩn

+ Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3

Thuốc thử được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C ổn định đến thời hạn ghi trên hộp

Thuốc thử đã mở nắp ổn định 4 tuần trên khay đựng hóa chất của máy (luôn bật)

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm

- Găng tay

- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh về mục đích của xét nghiệm

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng

### **4. Phiếu xét nghiệm**

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Tiến hành phân tích trên mẫu máu, có thể dùng: Huyết thanh; Huyết tương: dùng chất chống đông natri-heparin, EDTA.

Tính ổn định của mẫu: huyết thanh, huyết tương có thể ổn định: 24 giờ/nhiệt độ 2-25°C; 3 tháng/ nhiệt độ -20°C; Nếu > 3 tháng (-70°C).

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

## 2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level: 1, 2 và 3. Khi QC đạt sẽ tiến hành phân tích mẫu.

## 2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2giờ.

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm.

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Phân tích trên mẫu huyết tương huyết thanh của 817 người khỏe mạnh, xác định được một khoảng giá trị tham chiếu đến 7 pg/mL (bách phân vị 95%).

-Theo nghiên cứu (American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992;20:864-874). Kết quả theo bảng dưới đây:

|                        | IL-6 (pg/mL) |      |            |      |    |     |
|------------------------|--------------|------|------------|------|----|-----|
|                        | median       | Mean |            |      |    |     |
| SIRS*                  | 62.1         | 150  | $\leq 1.5$ | 2062 | 94 | 159 |
| Nhiễm trùng huyết      |              |      |            |      |    |     |
| Nhiễm trùng huyết nặng |              |      |            |      |    |     |
| Sốc nhiễm trùng        |              |      |            |      |    |     |

\*systemic inflammatory response syndrome

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

+ Các yếu tố có thể gây nhiễu khi:

Bilirubin > 428  $\mu\text{mol/L}$  (> 25 mg/dL); Huyết tán: khi Hb > 0.621 mmol/L (> 1.0 g/dL); Triglycerid > 1500 mg/dL; Yếu tố dạng thấp (Rh) > 1500 IU/mL; Biotin > 123 nmol/L (> 30 ng/mL).

+ Xử trí: Khi người bệnh đang sử dụng thuốc biotin với liều > 5 mg/24giờ, cần ngừng thuốc tối thiểu  $\geq 8$  giờ tính đến thời điểm lấy máu.

## **90. ĐỊNH LƯỢNG IL-8 (INTERLEUKIN - 8)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IL-8 là một chemokine - một trong những chất trung gian quan trọng của phản ứng viêm được tiết ra bởi một số loại tế bào. Nó có vai trò hấp dẫn hóa học với tế bào và cũng là một yếu tố tạo mạch mạnh. IL-8 thường được chỉ định xét nghiệm trong một số bệnh như: Bệnh vảy nến, Xơ hóa phổi, Bệnh màng phổi, Viêm khớp dạng thấp...

Interleukin- 8 được định lượng dựa trên nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Immulite
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Interleukin- 8, chất chuẩn Interleukin- 8, chất kiểm tra chất lượng Interleukin- 8.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là EDTA . Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 2-8°C, lâu dài ở -20°C. Tránh ánh sáng mặt trời.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IL8. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Interleukin- 8. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Interleukin- 8 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- + Bình thường Interleukin- 8 <62 pg/mL
- + Tăng trong một số quá trình viêm như: Bệnh vẩy nến, Xơ hóa phổi, Bệnh màng phổi, Viêm khớp dạng thấp...

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 200 mg/L.
  - + Cần thận trọng khi đánh giá kết quả với những mẫu máu vỡ hồng cầu hoặc tăng Lipid máu.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **91. ĐỊNH LƯỢNG IL-10 (INTERLEUKIN - 10)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IL-10 là một cytokine có tác dụng trong hóa miễn dịch và viêm. IL-10 thường được chỉ định xét nghiệm trong một số bệnh như: Nhiễm trùng huyết, Bệnh vẩy nến, Viêm khớp dạng thấp...

Interleukin-10 được định lượng dựa trên nguyên lý miễn dịch enzyme sử dụng công nghệ hóa phát quang.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Immulite
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Interleukin-10, chất chuẩn Interleukin-10, chất kiểm tra chất lượng Interleukin-10 .

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin, không sử dụng chất chống đông EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 6 giờ ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C. Tránh ánh sáng mặt trời.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IL-10. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Interleukin-



10. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Interleukin-10 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Bình thường Interleukin- 10 <9.1 pg/mL
- Tăng trong một số quá trình viêm như: Nhiễm trùng huyết, Bệnh vẩy nến, Viêm khớp dạng thấp...

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 200 mg/L .
  - + Huyết thanh đục: Triglycerid < 2000 mg/dl.
  - + Tán huyết: Có thể ảnh hưởng đến kết quả tùy vào mức độ tán huyết của mẫu.
  - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ Interleukin-10 tới 103.3 pg/mL
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **92. ĐỊNH LƯỢNG IgE (Immuglobulin E)**

### **(Bằng phương pháp ELISA)**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

- Định lượng IgE dựa trên pha rắn của phương pháp ELISA; phương pháp sử dụng kháng thể đơn dòng kháng kháng thể IgE ở đáy giếng trong pha rắn và kháng thể kháng IgE từ dê trong dung dịch kết hợp chứa enzyme horseradish peroxidase.
- Mẫu bệnh phẩm (huyết thanh) được thêm vào các giếng đã được tráng bằng kháng thể kháng IgE và ủ với dung dịch đệm Zero trong vòng 30 phút ở nhiệt độ phòng. Nếu IgE hiện diện trong mẫu bệnh phẩm, sẽ kết hợp với các kháng thể có trong giếng. Giếng được rửa để loại bỏ mẫu dư và kháng thể kháng IgE được đánh dấu bằng peroxidase được thêm vào hình thành phức liên kết enzyme và kháng thể, kẹp giữa là phân tử IgE.
- Sau khi ủ ở nhiệt độ phòng 30 phút, các giếng được rửa để loại bỏ các thành phần dư thừa. Cơ chất TMB được thêm vào ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút để chuyển thành màu xanh da trời dưới tác dụng của peroxidase. Tiến hành đọc phản ứng ở bước sóng 450 nm.
- Nồng độ IgE được tính trực tiếp từ độ đậm của màu xanh trong giếng

#### **II. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

###### **Bộ kit cung cấp**

- Giếng 96 lỗ đã chứa kháng thể đơn dòng IgE
- Zero buffer
- Enzyme conjugate
- Chuẩn IgE tham chiếu mỗi ống 0.5ml chứa 0, 10, 50, 100, 400 và 800 IU/mL của WHO
- Dung dịch hiện màu TMB
- Dung dịch ngưng phản ứng 1N HCl

**Điều kiện bảo quản:** 2-8°C

##### **3. Người bệnh**

Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm:

- Được sử dụng như một test dự ứng: xét nghiệm kháng thể IgE và test bì là các xét nghiệm về cơ bản có thể dùng thay thế lẫn nhau.
- Được chỉ định đối với một loạt các bệnh ký sinh trùng.
- Để chẩn đoán bệnh đa u tủy xương loại IgE.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

#### 5. Bệnh phẩm

- Lấy 3ml máu vào ống nghiệm không chống đông.
- Ly tâm, tách huyết thanh

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

- Đặt các giếng với số lượng mẫu dự định vào khay chứa
- Cho vào các giếng thích hợp 20  $\mu$ l chất chuẩn, mẫu và chứng
- Thêm 100  $\mu$ l Zero buffer mỗi giếng
- Trộn đều trong vòng 30 giây
- Ủ ở nhiệt độ phòng (18-25<sup>0</sup>C) trong vòng 30 phút
- Loại bỏ hỗn hợp dịch ủ bằng cách lật úp vào dụng cụ chứa nước thải
- Rửa và loại bỏ lặp lại 5 lần với nước không ion
- Loại bỏ lượng nước dư còn lại trong giếng bằng cách gõ đĩa trên giấy thấm
- Thêm vào mỗi giếng 150  $\mu$ l dung dịch enzyme conjugate, hoà trộn nhẹ nhàng 10 giây
- Ủ ở nhiệt độ phòng 30 phút
- Rửa 5 lần với nước cất hoặc nước không ion
- Dùng giấy thấm để loại bỏ lượng nước còn thừa trong giếng
- Thêm vào mỗi giếng 100 $\mu$ l dung dịch TMB, trộn đều 10 giây
- Ủ ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trong vòng 20 phút
- Thêm 100  $\mu$ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng
- Trộn nhẹ nhàng 10 giây, đảm bảo màu xanh chuyển thành màu vàng hoàn toàn
- Đọc giếng ở bước sóng 450nm trong vòng 15 phút

### IV. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

- Kết quả được tính bằng trung bình giá trị hấp thu A450 cho mỗi chuẩn tham chiếu, mẫu và chứng.
- Xây dựng đường cong chuẩn, vẽ đồ thị độ hấp thu của mẫu chuẩn trên trục Y và nồng độ của chất chuẩn trên trục X, với nồng độ đường chuẩn tính bằng IU/mL
- Dùng đường chuẩn để xác định nồng độ của IgE trong mẫu bằng cách chiếu vào đường chuẩn.

### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Lượng IgE tổng ở người khỏe mạnh không bị dị ứng <100 IU/mL. Nồng độ IgE tối thiểu phát hiện bằng phương pháp này ở khoảng 5.0 IU/ml
- Các giới hạn của quy trình:

- + Kết quả tin cậy khi nhân viên hiểu biết và thực hiện đúng theo quy trình và có thực hành tốt phòng thí nghiệm
- + Các bước rửa rất quan trọng, ảnh hưởng lớn đến kết quả nếu rửa không đủ và không đúng cách
- + Mẫu huyết thanh phải không bị tán huyết, không bị đục. Kết quả đạt được nên được sử dụng chỉ như là sự tiếp hợp với các phương pháp chẩn đoán khác và với những thông tin có sẵn cho bác sĩ.

## **93. ĐỊNH LƯỢNG IgE (Immunoglobuline E)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. IgE có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng IgE đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng IgE đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ IgE có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm IgE, chất chuẩn IgE, chất kiểm tra chất lượng IgE.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na-heparin, K3-EDTA, và sodium citrate. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IgE. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường:  $< 100 \text{ U/L}$
- IgE tăng trong: Các trạng thái dị ứng, hen phế quản, viêm mũi dị ứng, eczema, Nhiễm ký sinh trùng, nấm phổi.
- IgE máu giảm trong: Ung thư giai đoạn cuối không điều trị, Chứng mất điều hòa giãn mao mạch

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin  $< 37 \text{ mg/dL}$ .
  - + Tán huyết: Hemoglobin  $< 1.1 \text{ g/dl}$ .
  - + Huyết thanh đục: Triglycerid  $< 2200 \text{ mg/dl}$ .
  - + Biotin  $< 100 \text{ ng/ml}$ . Trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều  $> 5 \text{ mg/ngày}$  cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
  - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ IgE tới  $50000 \text{ IU/mL}$ .
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **94. ĐỊNH LƯỢNG IgA (Immunoglobuline A)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IgA là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong chống lại vi khuẩn xâm nhập từ bề mặt niêm mạc. IgA được chỉ định xét nghiệm trong một số bệnh nhiễm trùng của hệ hô hấp, tiêu hóa, bệnh tự miễn, u tủy IgA...

IgA được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng IgA trong thuốc thử kết hợp với IgA trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ IgA có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm IgA, chất chuẩn IgA, chất kiểm tra chất lượng IgA.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông Li-/Na-heparin hoặc Na<sub>2</sub>-/K<sub>3</sub>-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8 tháng ở 15-25°C đến (-15)–(-25)°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IgA. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgA. Kết quả

kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgA đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 70 – 400 mg/dl.
- IgA máu tăng trong: Nhiễm trùng (ở trẻ sơ sinh, đường hô hấp, đường tiêu hoá), Xơ gan, U tuỷ IgA, Bệnh tự miễn, sốt thấp khớp.
- IgA máu giảm trong: Thiếu hoặc không có  $\gamma$ -globulin huyết, Leucemia lympho bào, Tiền sản giật.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - +Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL.
  - + Tán huyết: Hemoglobin <1.0 g/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglycerid < 3000 mg/dl.
  - + RF< 600 IU/mL.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).



## **95. ĐỊNH LƯỢNG IgG (Immunoglobuline G)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IgG là một globulin miễn dịch, đây là loại globulin miễn dịch phổ biến nhất trong cơ thể có vai trò trong kiểm soát nhiễm khuẩn của cơ thể. Xét nghiệm IgG thường được chỉ định trong một số bệnh như: Nhiễm trùng, Xơ gan, U tủy IgG

IgG được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng IgG trong thuốc thử kết hợp với IgG trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ IgG có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm IgG, chất chuẩn IgG, chất kiểm tra chất lượng IgG.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông Li-/Na-heparin hoặc Na/K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8 tuần ở 2°C- 8°C, 4 tháng ở 15–25°C, 8 tháng ở (-15) - (-25)°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IgG. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgG. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgG đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 700 - 1600 mg/dl.
- IgG máu tăng trong: Nhiễm trùng, Xơ gan, U tủy IgG, sarcoidosis, Bệnh tự miễn, tăng miễn dịch, sốt thấp khớp.
- IgG máu giảm trong: Thiếu hoặc không có  $\gamma$ -globulin huyết, Leucemia lympho bào, Tiền sản giật.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL.
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 1.0 g/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglycerid < 3000 mg/dl.
  - + RF < 1200 IU/mL.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **96. ĐỊNH LƯỢNG IgM (Immunoglobuline M)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IgM là globulin miễn dịch có trọng lượng phân tử lớn nhất trong các globulin miễn dịch. Cấu trúc gồm 5 tiểu đơn vị xếp thành hình sao 5 cánh. IgM chiếm khoảng 7% các Ig trong huyết thanh, là Ig xuất hiện đầu tiên khi có kích thích của kháng nguyên. Vì vậy nó có vai trò quan trọng trong đáp ứng miễn dịch ở giai đoạn cấp tính. Xét nghiệm IgM thường được chỉ định trong một số bệnh như: Nhiễm trùng cấp, Bệnh macroglobulin Waldstrom, Sốt rét, Lymphosarcom, Tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng...

IgM được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng IgM trong thuốc thử kết hợp với IgM trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ IgM có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm IgM, chất chuẩn IgM, chất kiểm tra chất lượng IgM.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông Li-/Na-heparin hoặc Na<sub>2</sub>-/K<sub>3</sub>-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 4 tháng ở 2°C-8, 2 tháng ở 15–25°C, 6 tháng ở (-15)–(-25)°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IgM. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgM. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgM đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 40 – 230 mg/dl.

- IgM máu tăng trong: Nhiễm trùng cấp, Bệnh macroglobulin Waldestrom, Sốt rét, Lymphosarcom, Tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng, Nhiễm virus Rubella ở trẻ sơ sinh.

- IgM máu giảm trong: Thiếu hoặc không có  $\gamma$ -globulin huyết, Leucemia lympho bào, Tiền sản giật.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.0 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglycerid < 3000 mg/dl.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **97. ĐỊNH LƯỢNG IGFBP-3 ( Insulin-like grow factor binding protein)**

IGF (Insulin-like Growth Factor) bao gồm IGF-I và IGF-II là một họ các peptide tham gia vào việc quy định sự tăng trưởng của tế bào, được thể hiện gián tiếp thông qua liên kết với các protein IGFBP (từ IGFBP-1 đến IGFBP-6), tạo thành phức hợp Glycoprotein. Trong đó IGFBP-3 có vai trò quan trọng nhất vì khoảng 95% IGF-I và IGF-II liên kết với IGFBP-3. Chức năng của IGFBP là kéo dài thời gian bán hủy của các IGF đến vài giờ trong vòng tuần hoàn của chúng.

### **I. NGUYÊN LÝ**

Nồng độ IGFBP-3 được xác định dựa trên phép phân tích miễn dịch hóa phát quang đánh dấu enzym ( Enzyme-labeled chemiluminescent immunoassay)

Quy trình phản ứng: Mẫu của người bệnh và thuốc thử sẽ được ủ cùng với hạt bead trong vòng 30 phút. Suốt thời gian này, IGFBP-3 trong mẫu sẽ liên kết với kháng thể đơn dòng kháng IGFBP-3 có trong thuốc thử và trên hạt bead để tạo nên phức hợp Sandwich: *Kháng thể-Kháng nguyên-Kháng thể*. Những thành phần không liên kết sẽ được rửa ly tâm để loại bỏ. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào tube phản ứng để tạo tín hiệu nhờ sự xúc tác của enzym ALP, tín hiệu thu được sẽ tỷ lệ thuận với lượng enzym ALP (có trong thuốc thử) gắn với kháng thể 2, hay tỷ lệ thuận với lượng IGFBP-3 có trong mẫu.

### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** Bác sỹ, cử nhân được đào tạo sử dụng máy Immulite 2000.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

**2.1. Phương tiện:** Hệ thống máy phân tích Immulite 2000 của hãng SIEMENS

#### **2.2. Hóa chất**

- Pha rắn: Hộp chứa hạt bead IGFBP-3

+ Chứa 200 hạt bead được phủ kháng thể đơn dòng kháng IGFBP-3 từ chuột

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Pha lỏng: Hộp chứa thuốc thử IGFBP-3

+ Chứa 11,5 mL enzymn alkaline phosphatase (từ ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng kháng IGFBP-3 từ chuột, trong dung dịch đệm.

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Các dung dịch hiệu chuẩn (Adjustor) IGFBP-3:

- + 2 lọ chứa IGFBP-3 (mức thấp và mức cao) trong dung dịch có nguồn gốc từ protein.(4mL/lọ). Không cần hòa loãng
- + Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C trong 30 ngày sau mở nắp, 6 tháng ở -20°C.
- Dung dịch hòa loãng mẫu: dùng để hòa loãng mẫu và control
- + Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C trong 30 ngày sau mở nắp, 6 tháng ở -20°C.
- Các thành phần không được cung cấp kèm theo Kit:
- + Cơ chất hóa phát quang (Chemiluminescent Substrate): là một ester phosphate của adamantyl dioxetane, bị thủy phân dưới xúc tác của enzym ALP tạo thành một dạng trung gian không ổn định. Chất trung gian này nhanh chóng bị phá vỡ liên kết để chuyển thành dạng ổn định, đồng thời phát xạ ánh sáng.
- + Dung dịch rửa các kim hút (Probe wash)
- + Dung dịch vệ sinh các kim hút (Probe Cleaning Kit)
- + Tube phản ứng, Tube mẫu
- + Dung dịch kiểm tra chất lượng (Control): 2 mức

**Lưu ý:**

- + *Chỉ sử dụng để chẩn đoán trong phòng thí nghiệm*
- + *Thuốc thử được loại bỏ theo quy định*
- + *Chất bảo quản Natri azide (dưới 0,1 g/dL). Khi xử lý phải dùng một lượng nước lớn để rửa, tránh sự ăn mòn đường ống.*
- + *Cơ chất hoá phát quang: tránh nhiễm bẩn, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời.*
- + *Nước: sử dụng nước cất hoặc nước đã loại ion.*

### 3. Người bệnh:

Người bệnh có dấu hiệu bất thường tuyến yên hoặc rối loạn trong sản xuất hormon tăng trưởng (GH – Growth hormone). Không nhất thiết yêu cầu người bệnh nhịn ăn trước khi lấy máu làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:** theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế, phải điền đầy đủ thông tin người bệnh...

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Mẫu phân tích: Huyết thanh hoặc huyết tương có chất chống đông heparin.
- Xử lý mẫu:

+ Đảm bảo cục máu đông co lại hoàn toàn trước khi ly tâm mẫu tách huyết thanh, tránh nhiễu kết quả do sự có mặt của fibrin.

+ Khi sử dụng máu bị vỡ hồng cầu, việc đánh giá kết quả cần thận trọng.

+ Sử dụng máy siêu ly tâm để làm trong những mẫu có Lipid cao.

- Thể tích mẫu cần thiết: 5 µl huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bảo quản: 24 giờ ở 2 – 8°C hoặc ở nhiệt độ phòng 22°C, 12 tháng ở -25°C.

- Hệ số pha loãng mẫu tự động: 100

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

### **2.1. Quy trình phân tích**

- Để có kết quả tối ưu, cần tuân thủ các bước của quy trình bảo trì theo sách hướng dẫn IMMULITE 2000. Bao gồm: chuẩn bị, cài đặt, hòa loãng, hiệu chỉnh đường chuẩn (Adjustment), chạy kiểm tra chất lượng và phân tích.

- Chu kỳ hiệu chỉnh lại đường chuẩn (Adjustment) được khuyến cáo là 2 tuần, hoặc khi chạy kiểm tra chất lượng không đạt, hoặc khi thay Lot hóa chất mới.

- Chạy kiểm tra chất lượng ít nhất là 2 mức (thấp và cao)

### **2.2. Chu kỳ ủ: 1 x 30 phút**

### **2.3. Thời gian có kết quả đầu tiên: 35 phút**

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Hiện thị kết quả**

- Đơn vị đo: µg/mL

Hệ số chuyển đổi đơn vị:

$\mu\text{g/mL} \times 1 \rightarrow \text{mg/L}$

$\mu\text{g/mL} \times 34,78 \rightarrow \text{nmol/L}$

- Giới hạn đo: 0,1 - 16 µg/mL

- Độ nhạy: 0,1 µg/mL

### **2. Giá trị tham khảo**

- Trẻ sơ sinh:

+ Từ 1 đến 7 ngày: 0,7 µg/mL

+ Từ 8 đến 15 ngày: Trung vị 0,9 µg/mL (giới hạn 95%: 0,5 -1,4 µg/mL)

- Đối tượng khác:

| Tuổi | Trung vị IGFBP-3<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | Giới hạn<br>95% | Tuổi  | Trung vị IGFBP-3<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | Giới hạn<br>95% |
|------|------------------------------------------|-----------------|-------|------------------------------------------|-----------------|
| 1    | 1,6                                      | 0,7 - 3,6       | 17    | 5,3                                      | 3,2 – 8,7       |
| 2    | 1,8                                      | 0,8 – 3,9       | 18    | 4,9                                      | 3,1 – 7,9       |
| 3    | 2,0                                      | 0,9 – 4,3       | 19    | 4,6                                      | 2,9 – 7,3       |
| 4    | 2,2                                      | 1,0 – 4,7       | 20    | 4,6                                      | 2,9 - 7,2       |
| 5    | 2,4                                      | 1,1 – 5,2       | 21-25 | 5,1                                      | 3,4 – 7,8       |
| 6    | 2,7                                      | 1,3 – 5,6       | 26-30 | 5,2                                      | 3,5 – 7,6       |
| 7    | 2,9                                      | 1,4 – 6,1       | 31-35 | 4,9                                      | 3,5 - 7,0       |
| 8    | 3,2                                      | 1,6 – 6,5       | 36-40 | 4,8                                      | 3,4 - 6,7       |
| 9    | 3,6                                      | 1,8 – 7,1       | 41-45 | 4,7                                      | 3,3 – 6,6       |
| 10   | 4,1                                      | 2,1 – 7,7       | 46-50 | 4,7                                      | 3,3 – 6,7       |
| 11   | 4,5                                      | 2,4 – 8,4       | 51-55 | 4,8                                      | 3,4 – 6,8       |
| 12   | 4,9                                      | 2,7 – 8,9       | 56-60 | 4,8                                      | 3,4 – 6,9       |
| 13   | 5,4                                      | 3,1 – 9,5       | 61-65 | 4,6                                      | 3,2 – 6,6       |
| 14   | 5,8                                      | 3,3 - 10        | 66-70 | 4,3                                      | 3,0 – 6,2       |
| 15   | 5,9                                      | 3,5 – 10        | 71-75 | 4,0                                      | 2,8 – 5,7       |
| 16   | 5,7                                      | 3,4 - 9,5       | 76-80 | 3,5                                      | 2,5 – 5,1       |

*Mỗi Phòng thí nghiệm nên thiết lập một giá trị tham khảo riêng.*

### 3. Đánh giá

- Nồng độ IGFBP-3 chịu ảnh hưởng bởi GH, do đó rất hữu ích trong việc đánh giá sự tiết của GH, đồng thời đánh giá các rối loạn tăng trưởng: Nồng độ thấp của IGFBP-3 thường liên quan đến sự thiếu hụt GH. Ngược lại, sự tăng nồng độ IGFBP-3 là do sự sản xuất quá mức của GH.
- Ngoài GH, nồng độ IGFBP-3 còn bị ảnh hưởng bởi các yếu tố khác như:
  - + Độ tuổi: Nồng độ IGFBP-3 tăng dần theo độ tuổi, đạt đỉnh ở tuổi dậy thì (khoảng 15 tuổi), sau đó giảm dần ở tuổi trưởng thành.
  - + Nồng độ IGFBP-3 tăng trong suy thận mạn, giảm trong suy dinh dưỡng, suy giáp, đái tháo đường và suy gan.

## V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 1. Hạn chế của phương pháp



- Các kháng thể không đồng nhất trong huyết thanh người có thể phản ứng với các Ig trong thuốc thử gây nhiều kết quả phân tích
- Những người bệnh thường xuyên tiếp xúc với động vật hoặc các sản phẩm từ huyết thanh động vật cũng có thể gây nhiều kết quả phân tích
- Sử dụng kết quả phân tích với mục đích chẩn đoán, cần kết hợp với các triệu chứng lâm sàng và tiền sử bệnh của người bệnh.

## **2. Yếu tố gây nhiễu**

- Hiệu ứng High-dose Hook:  $>340 \mu\text{g/mL}$ 
  - Các mẫu huyết thanh có nồng độ T-Bilirubin  $> 200 \text{ mg/L}$  ( $342 \mu\text{mol/L}$ ), hoặc nồng độ Hb  $> 550 \text{ mg/dL}$ , hoặc nồng độ TG  $> 3000 \text{ mg/dL}$  ( $33,9 \text{ mmol/L}$ ) có thể ảnh hưởng đến kết quả. *Do đó, không sử dụng các mẫu này để phân tích.*

## 98. ĐỊNH LƯỢNG INSULIN

### I. NGUYÊN LÝ

Insulin là hormon do tế bào beta của tiểu đảo tụy Langerhans tiết ra, có chức năng điều hòa chuyển hóa 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 Anti-insulin-Ab~biotin, thể tích 10 mL:
- Kháng thể kháng insulin đơn dòng được gắn với Biotinyl: 1 mg/L; đệm MES 50 mmol/L, pH 6.0; chất bảo quản.
- Thuốc thử 3 (R2) nắp màu đen, có Anti-insulin-Ab~Ru(bpy), thể tích 10 mL: có chứa kháng thể kháng insulin đơn dòng đánh dấu bằng phức hợp ruthenium: 1.75 mg/L; dung dịch đệm MES 50 mmol/L, pH 6.0; chất bảo quản.
- Bảo quản thuốc thử: ở nhiệt độ 2- 8°C, có thể ổn định đến thời hạn ghi trên hộp. Thuốc thử sau khi mở nắp bảo quản được 12 tuần ở 2-8°C. Nếu để trên máy (không tắt máy) có thể được 4 tuần.
- Procell; Clean cell
- Dung dịch chuẩn
- Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3

## **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

Ống nghiệm; găng tay; Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

## **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của xét nghiệm.

Cần nhịn ăn 10 giờ tính đến thời điểm lấy máu.

## **4. Phiếu xét nghiệm**

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Phân tích trên mẫu máu: có thể dùng Huyết thanh; Huyết tương: chống đông: Li-heparin, K3-EDTA và sodium citrate.

Tính ổn định của mẫu: 24 giờ/ nhiệt độ 2-8°C; 6 tháng/ nhiệt độ -20°C. Mẫu chỉ đông lạnh một lần, mẫu bị vẩn, tủa cần ly tâm trước khi phân tích.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

Dụng đường chuẩn

Phân tích QC: ở cả 3 level. Khi QC đạt mới tiến hành phân tích mẫu.

## **2.2. Phân tích mẫu**

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2 xét nghiệm.

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm.

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và máy sẽ tự động phân tích.

## **III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **Trị số tham khảo**

17,8 -173 pmol/L (2,6 – 24,9  $\mu$ U/mL)

**Hệ số chuyển đổi:** pmol/L x 0,144 =  $\mu$ U/mL

$\mu$ U/mL x 6.945 =pmol/L

**Insulin tăng:** Bệnh ĐTĐ type 2, Hội chứng Cushing, Bệnh to viển cực, khối u insulin (Insulinoma)

**Insulin giảm:** Tăng glucose máu, Suy tuyến yên, ĐTĐ type 1.

## **IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

+ Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi: Bilirubin > 1539  $\mu$ mol/l (>90 mg/dL); Triglycerid > 1800 mg/dL; Biotin> 246 nmol/L (> 60 ng/mL).

+ Xử trí:

Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu, mẫu vỡ hồng cầu cần loại, lấy mẫu khác thay thế.

Ngừng các thuốc gây tăng nồng độ insulin máu: adrenalin, canxi gluconat, fructose, glucose, insulin, hormon tuyến giáp,...

Ngừng các thuốc làm giảm nồng độ insulin máu: (asparaginase, thuốc chẹn beta giao cảm, calcitonin, cimetidin).

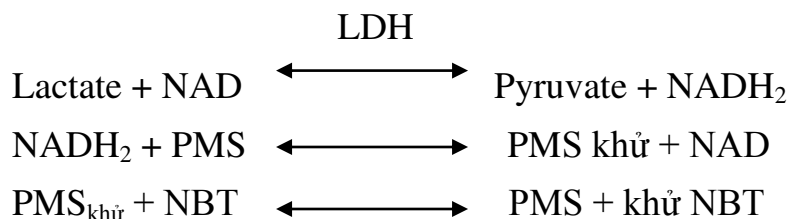
## 99. ĐIỆN DI LACTAT DEHYDROGENASE (LDH)

### I. NGUYÊN LÝ

Lactat dehydrogenase (LDH) gồm 5 isoenzym. Điện di LDH nhằm phân tách các thành phần isoenzym của LDH. Điện di isoenzym LDH được thiết kế để xác định và định lượng 5 iso enzymes LDH trong huyết thanh người. LDH bao gồm năm đơn vị Isoenzym từ LDH<sub>1</sub> đến LDH<sub>5</sub>. Mỗi isoenzym LDH được tạo thành từ bốn tiểu đơn vị (chuỗi polypeptide), có hai loại tiểu đơn vị: M ("cơ bắp") và H ("tim"). Điện di isoenzym LDH cho ra các thành phần, tên gọi và nguồn gốc các LDH như sau:

| TÊN GỌI | THÀNH PHẦN                    | NGUỒN TỪ MÔ   |
|---------|-------------------------------|---------------|
| LD1     | H <sub>4</sub>                | Tim           |
| LD2     | H <sub>3</sub> M              | Tim           |
| LD3     | H <sub>2</sub> M <sub>2</sub> | Từ nhiều mô   |
| LD4     | HM <sub>3</sub>               | Từ nhiều mô   |
| LD5     | M <sub>4</sub>                | Cơ xương, gan |

Tất cả isoenzymes LDH xúc tác phản ứng thuận nghịch theo phản ứng sau:



NAD: Nicotinamide Adenine Dinucleotic

PMS: Phenazine Methosulfate

NBT: Nitro Blue Tetrazolium

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, Cử nhân, hoặc kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh được tập huấn sử dụng máy

#### 2. Phương tiện, hóa chất

2.1. *Phương tiện*: Máy Hydrasys của hãng Sebia Pháp

2.2. *Hóa chất*: Được cung cấp bởi hãng đặt máy, gồm:

|                                      |     |       |    |     |          |         |
|--------------------------------------|-----|-------|----|-----|----------|---------|
| 7                                    | mẫu | trong | bộ | kit | HYDRAGEL | ISO-LDH |
| 15                                   | mẫu | trong | bộ | kit | HYDRAGEL | ISO-LDH |
| 30 mẫu trong bộ kit HYDRAGEL ISO-LDH |     |       |    |     |          |         |

**Thành phần trong mỗi bộ kit:**

**Agarose gel**: bảo quản ở nhiệt độ phòng (15-30<sup>0</sup>C) hoặc lạnh (2-8<sup>0</sup>C). Chúng được ổn định đến ngày hết hạn ghi trên gói. Tránh lưu trữ gần cửa sổ hoặc nguồn nhiệt, không làm đông lạnh.

**Dải đệm**: gồm alkaline buffer pH= 8,3. Lưu trữ ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh (Mũi tên trên mặt trước của hộp hướng lên trên), chúng ổn định cho đến ngày hết hạn ghi trên gói kit, không làm đông lạnh.

**Dung môi hòa tan cơ chất**: gồm lithium lactate, bảo quản ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh, ổn định đến ngày hết hạn ghi trên gói kit.

**Cơ chất ISO-LDH**: gồm NAD, NBT, PMS.

Pha cơ chất 10 phút trước khi sử dụng bằng cách thêm 2,25 mL dung môi hòa tan cơ chất vào lọ, đậy nắp, để ở nhiệt độ phòng (15-30<sup>0</sup>C) trong 05 phút, sau đó trộn nhẹ nhàng.

**Dung dịch kìm hãm ISO CK / LD**: gồm a.acetic 5%, a.citric 0,5%.

sử dụng để làm ngừng phản ứng enzym với cơ chất sau khi ủ gel theo thời gian quy định. Bảo quản ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh và ổn định đến ngày hết hạn ghi trên lọ.

**Applicators**: dùng để mao dẫn huyết thanh

**Giấy lọc mỏng**: để thấm độ ẩm thừa khỏi bề mặt gel trước khi sử dụng mẫu. Lưu trữ giấy lọc mỏng ở nơi khô ráo, nhiệt độ phòng.

**Giấy lọc dày**: để thấm nhiều dung dịch chặn ra khỏi bề mặt gel trước khi sấy khô. Bảo quản ở nơi khô ráo, nhiệt độ phòng.

**3. Người bệnh**: Gồm những người bệnh khám và điều trị tại bệnh viện.

Những người bệnh nghi ngờ tổn thương gan, thận, tim

**4. Phiếu xét nghiệm**: Theo mẫu quy định của bệnh viện và Bộ Y tế.

Cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán, ghi rõ chỉ định xét nghiệm, thời gian lấy mẫu, loại mẫu...

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Lấy bệnh phẩm**: Chỉ dùng huyết thanh

- Lấy 2ml máu cho vào ống nghiệm không có chất chống đông. Quay ly tâm, tách lấy phần huyết thanh. Bảo quản 1 tuần ở nhiệt độ phòng, không bảo quản mẫu ở 2-8 oC. Không dùng mẫu đông lạnh hoặc mẫu vỡ hồng cầu
- Khi hoạt độ LDH > 750 IU/L, pha loãng mẫu huyết thanh bằng nước muối sinh lý để đạt được hoạt độ LDH khoảng 750 IU/L. Trộn và ủ trong 10 phút ở nhiệt độ phòng.

## 2. Tiến hành kỹ thuật

- Bật máy Hydrasys
- Lấy 10 $\mu$ L huyết thanh nhỏ vào mỗi giếng trên applicator, tránh lan sang giếng bên cạnh
- Đặt Applicator vào bình hút ẩm 5 phút
- Mở nắp buồng điện di và gắn điện cực vào
- Chọn chương trình điện di trên màn hình của máy
- Mở gói Agarose gel, dùng giấy thấm mỏng để thấm hết dung dịch bảo quản trên gel.
- Nhỏ 120 $\mu$ L nước cất (đối với HYDRAGEL 7 ISO CK/LD), hoặc 200  $\mu$ L cho HYDRAGEL ISO CK/LD 15/30) lên 1/3 dưới của khung đặt Agarose gel
- Đặt tấm gel lên khung, tránh bong bóng giữa tấm gel và bề mặt khung
- Thấm hết dung dịch thừa xung quanh gel
- Chụp khung bảo vệ, đặt applicator lên trên khung đúng vị trí
- Đậy nắp buồng điện di và ấn START
- Sau khi điện di xong, lấy applicator ra khỏi buồng điện di
- Đặt template 4 (khuôn) vào buồng ủ bên cạnh buồng điện di, dùng pipet nhỏ 2ml cơ chất ISO LDH (đối với HYDRAGEL 7 ISO CK / LD, hoặc 4 ml đối với ISO-LDH cho HYDRAGEL ISO CK / LD 15/30) vào lỗ của template 4, tránh bọt khí, sau đó bấm nút start trên máy để ủ. Sau khi ủ xong loại bỏ cơ chất ISO LDH thừa bằng pipet.
- Sau đó nhỏ 2ml dung dịch nhuộm ISO LDH (đối với HYDRAGEL 7 ISO CK / LD, hoặc 4 ml đối với ISO-LDH cho HYDRAGEL ISO CK / LD 15/30), tránh bọt khí, sau đó bấm nút start trên máy để nhuộm. Sau khi nhuộm xong loại bỏ dung dịch nhuộm ISO LDH thừa bằng giấy thấm.
- Bước tiếp theo là sấy khô và scan gel lên phần mềm và phân tích kết quả (ở bước sóng 570nm).
- Trong mỗi lần chạy mẫu nên kèm theo 1 mẫu Control.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- LDH là một enzym trong tế bào xúc tác phản ứng pyruvat  $\leftrightarrow$  lactat. LDH có mặt trong hầu hết các mô của cơ thể và được giải phóng khi có tình trạng hủy tế bào.
- LDH tăng trong : tổn thương cơ, tổn thương gan, bệnh lý huyết học (tan máu, thiếu máu), tổn thương thận (suy thận, ghép thận)
- Giá trị tham khảo : LDH toàn phần 240 – 480 U/L

LD1: 16,1 - 31,5%

LD2: 29,2 – 41,6%

LD3: 17 – 26,3%

LD4: 5,9 – 12,3%

LD5: 3,2 – 17,3%

Mỗi Labo nên thiết lập giá trị bình thường của riêng mình.

Khi phân tích kết quả nên kết hợp với tiền sử của người bệnh.

- LD1 và LD2 tăng trong nhồi máu cơ tim, phẫu thuật tim, tan huyết, bệnh
- LD3 tăng và đồng thời cũng tăng LD2 và LD4 trong nhồi máu phổi, lymphomas...
- LD5 tăng trong các bệnh lý về cơ xương, bệnh gan và suy tim sung huyết.

#### V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Hoạt độ LDH trong hồng cầu cao gấp 100 lần so với hoạt độ enzym trong huyết thanh, vì vậy những trường hợp mẫu vỡ hồng cầu có thể làm kết quả không chính xác  $\rightarrow$  không thực hiện.
- Liên hệ với kỹ sư để được chỉ dẫn khi kỹ thuật bị lỗi, hay chuẩn bị và bảo quản hóa chất một cách cẩn thận.



## 100. ĐỊNH LƯỢNG IMA (Ischemia Modified Albumin)

IMA là albumin bị biến đổi do thiếu máu cục bộ, được tạo ra khi albumin huyết thanh trong hệ tuần hoàn tiếp xúc với mô cơ tim bị thiếu máu cục bộ. IMA là một dấu ấn nhạy cho thiếu máu cục bộ cơ tim được các nhà nghiên cứu quan tâm. Các dấu ấn tim hiện có như Troponin và CK-MB thì nhạy với hoại tử cơ tim. Đó là dấu ấn của các tế bào cơ tim bị hoại tử trong nhồi máu cơ tim cấp. Tuy nhiên, phần lớn người bệnh với hội chứng mạch vành cấp có thiếu máu cục bộ cơ tim nhưng không bị nhồi máu.

### I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng IMA trong huyết thanh và huyết tương người.

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên - kháng thể, theo phương pháp sandwich: các giếng được phủ kháng thể đặc hiệu cho IMA. Standard, mẫu và Biotin-kháng thể (đã chuẩn bị) được thêm vào, IMA trong mẫu kết hợp với kháng thể phủ trên giếng và Biotin-kháng thể mới được thêm vào. Sau khi rửa đi các Biotin-kháng thể không kết hợp, HRP- Avidin liên hợp (đã chuẩn bị) được thêm vào. Tiếp sau khi các giếng được rửa lần hai, cơ chất TMB được thêm vào giếng. Tiếp theo, dung dịch ngừng phản ứng thêm vào sẽ chuyển từ màu *xanh sang vàng*, đậm độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ IMA trong mẫu thử, được đo ở bước sóng 450 nm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- *Thuốc thử được cung cấp của hãng Cusabio (CSB-E09594giò)*
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Biotin-kháng thể
- + Chuẩn (dạng đông khô)
- + Avidin-HRP
- + Dung dịch hòa loãng
- + Dung dịch rửa
- + Dung dịch hòa loãng Biotin-kháng thể
- + Cơ chất TMB

+ Dung dịch hòa loãng Avidin-HRP

+ Dung dịch ngừng phản ứng.

Trong đó: HRP-Avidin là Avidin liên kết với HRP (Horseradish Peroxidase)

TMB: 3,3',5,5' tetramethyl-benzidine

- *Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp*

+ Pipet chính xác

+ Các tube

+ Đầu côn pipet dùng một lần

+ Nước cất

+ Control 2 mức thấp và cao

### **3. Người bệnh**

Không cần nhịn đói.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng citrate, EDTA, heparin.
- Huyết thanh: sau khi lấy mẫu thì để 30 phút, co cục máu, sau đó ly tâm 3000 vòng/phút, trong 10 phút. Tách ngay ra tube và bảo quản ở - 20° C. Ly tâm lại sau khi làm rã đông mỗi khi chạy mẫu. Chỉ rã đông một lần.
- Huyết tương: tương tự như trên nhưng phải ly tâm ngay sau khi lấy mẫu, không để quá 30 phút.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị thuốc thử**

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

##### **2.1.1. Dung dịch rửa**

Hòa 20 ml dung dịch rửa với nước cất để được dung dịch 500 ml.

##### **2.1.2. Chuẩn (S0 - S7)**

- Ly tâm lọ thuốc thử chuẩn (dạng đông khô) 6000 vòng/phút trong 30 giây.

- Thêm 1ml dung dịch hòa loãng vào lọ chuẩn (dạng đông khô) để được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 200 IU/mL (S7), để ít nhất 15 phút, lắc đều.
- Hòa tiếp nhiều lần để được các dung dịch chuẩn trực dụng (S6 - S1) với các nồng độ lần lượt là 100 IU/mL; 50 IU/mL; 25 IU/mL; 12,5 IU/mL; 6,25 IU/mL; 3,13 IU/mL. S0 có nồng độ 0 pg/mL.
- Sử dụng trong 4 giờ và vớt ngay sau khi dùng.

### 2.1.3. Biotin-kháng thể

Pha theo tỉ lệ Biotin-kháng thể : Dung dịch hòa loãng Biotin-kháng thể là 1:100

### 2.1.4. Avidin-HRP

Pha theo tỉ lệ HRP-avidin : Dung dịch hòa loãng Avidin-HRP là 1:100

## 2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng 270 phút
- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

- + Hút 100  $\mu$ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- + Ủ 120 phút ở 37° C
- + Loại bỏ chất lỏng, không rửa
- + Hút 100  $\mu$ l dung dịch Biotin-kháng thể trực dụng vào mỗi giếng
- + Ủ 60 phút ở 37° C
- + Rửa các giếng 3 lần với 200  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100  $\mu$ l dung dịch Avidin-HRP trực dụng vào mỗi giếng
- + Ủ 60 phút ở 37° C.
- + Rửa các giếng 3 lần với 200  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 90  $\mu$ l cơ chất TMB vào mỗi giếng
- + Ủ ở 37° C trong vòng 10 - 30 phút
- + Hút 50  $\mu$ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng
- + Tiến hành đo trong vòng 30 phút

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham khảo:

Người lớn: 4,0 - 33,85 IU/mL

- Ý nghĩa lâm sàng: IMA tăng trong

+ Hội chứng mạch vành cấp.

+ Tăng trong vòng vài phút sau khi thiếu máu cục bộ cơ tim, đạt đỉnh sau 6 giờ và tăng kéo dài đến 12 giờ.

+ Người bệnh xơ gan, vài loại nhiễm trùng và ung thư đang tiến triển

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Mẫu có kết quả vượt quá 200 IU/mL thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch hòa loãng.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

## 101. ĐỊNH LƯỢNG Kappa

### I. NGUYÊN LÝ

Đa kháng thể là hỗn hợp các kháng thể chuyên biệt thu được từ việc tạo miễn dịch cho vật nuôi (đê) với các protein của người. Hiệu giá, tính ái lực và tính tinh khiết của các kháng thể này phù hợp trong phương pháp đo độ đục. Trong phương pháp này, các protein trong huyết thanh mẫu bệnh phẩm (kappa) phản ứng với kháng thể đặc hiệu (kháng protein) tạo tủa làm đục dung dịch có thể đo mức độ đục bằng máy đo quang để tính ra nồng độ kappa.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

02 người là bác sĩ và kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh, Miễn dịch.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### - Bộ kit cung cấp

+ **Dung dịch 1:** chất hoạt hóa kháng thể 2 x 10 ml

+ **Dung dịch 2:** kháng huyết thanh 2 x 1 ml

+ **Dung dịch 3:** mẫu và chất chuẩn 2 x 10 ml

- Điều kiện bảo quản : 2-8°C cho đến khi hết hạn trên nhãn.

- Cảnh báo: tất cả các hóa chất đều chứa sodium azide <0.1%. Lưu ý cẩn thận, không được nuốt, tránh tiếp xúc với da và bề mặt hở

#### 3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích làm xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Chuẩn bị hóa chất và mẫu bệnh phẩm

- Mẫu huyết thanh hoặc huyết tương

- Mẫu ổn định trong vòng 4 ngày (2-8°C), 4 tuần ở -20°C

- Để hóa chất và mẫu bệnh phẩm ở nhiệt độ phòng trước khi sử dụng

- Dung dịch 3: pha loãng 20 lần với mẫu và với chất chuẩn

- Vẽ đường chuẩn cho mẫu lần xét nghiệm

#### 2. Chuẩn bị đường chuẩn

- Để vẽ đường chuẩn, pha loãng chất chuẩn Lambda với dung dịch 3 để đạt được 5 mức nồng độ bao gồm giữa cho đến quá giới hạn đường tuyến tính.

- Đường tuyến tính : 200-2000 mg/dl.

### 3. Pha mẫu

Phân biệt các ống đo từ 1 đến 5 cho 5 ống chuẩn

Pha mẫu đo như sau:

|                                           | Mẫu    | Chuẩn  |
|-------------------------------------------|--------|--------|
| Dung dịch 1                               | 500 ul | 500 ul |
| Mẫu (đã pha loãng 20 lần)                 | 10 ul  | --     |
| Chất chuẩn (đã pha loãng 20 lần)          | --     | 10 ul  |
| Hòa trộn và đo độ hấp thu A1              |        |        |
| Dung dịch 2                               | 50 ul  | 50 ul  |
| Hòa trộn và đợi 10 phút, đo độ hấp thu A2 |        |        |

## IV. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

- Vẽ hệ thống Cartesian trên giấy đồ thị: Nồng độ theo chiều ngang ( trục X) với đơn vị là mg/dl và độ hấp thu theo chiều dọc (trục Y).
- Đánh dấu Hiệu các độ hấp thu (A2- A1) của 5 mức chuẩn trong so sánh tương quan nồng độ.
- Vẽ đường đi qua 5 điểm.
- Đánh dấu giá trị hấp thu (A2- A1) của mẫu để suy ra nồng độ.
- Chỉ số tham khảo: nồng độ chuỗi Kappa 660-1300 mg/dl.

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng MSDS để tham khảo các hóa chất nguy hiểm
- Giá trị đo được là giá trị tổng của toàn bộ chuỗi protein; chia 3 để đạt được giá trị nồng độ của chuỗi nhẹ.

## 102. ĐỊNH LƯỢNG CHUỖI KAPPA TỰ DO

### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng chuỗi nhẹ Kappa tự do có thể hỗ trợ lâm sàng chẩn đoán và theo dõi bệnh đa u tủy xương, u lympho, Bệnh đại phân tử Waldenström, thoái hóa dạng tinh bột amyloid, bệnh lắng đọng chuỗi nhẹ và các bệnh mô liên kết như lupus ban đỏ hệ thống.

Nguyên lý: Dựa trên nguyên lý miễn dịch. Sử dụng phương pháp miễn dịch đo độ đục có tăng cường các vi hạt latex. Chuỗi nhẹ Lambda tự do có trong mẫu huyết thanh hoặc nước tiểu sẽ kết hợp với các vi hạt latex đã được bao phủ trên bề mặt bởi lớp kháng thể kháng kappa, tạo thành phức hợp ngưng kết miễn dịch. Do lượng các kháng thể là dư thừa nên phức hợp miễn dịch được hình thành là tỷ lệ thuận với nồng độ kháng nguyên (chất cần phân tích). Tiến hành xác định độ đục của phức hợp này bằng phương pháp đo quang bước sóng 600 nm. Dựa trên đường cong chuẩn để tính được nồng độ chuỗi nhẹ Kappa tự do cần phân tích trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Các máy phân tích hóa sinh như AU 400, 640, 2700, 5800 và một số máy khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, ống sample cup
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

##### 2.2. Hóa chất

+Thuốc thử 1 (R1): Có các kháng thể đặc hiệu bao phủ lên các vi hạt latex. Chất bảo quản: 0.05% ProClin™\*, 0.1% E-amino-n-caproic acid (EACA) và 0.01% benzamidine

+ Thuốc thử 2 (R2): Dung dịch chuẩn có nguồn gốc từ huyết thanh người có chứa kháng nguyên đa giá của chuỗi nhẹ Kappa tự do. Được đóng lọ dưới dạng dung dịch có tính ổn định cao có chứa 0.099% Natri azide, 0.1% EACA và 0.01% benzamidine có tác dụng như chất bảo quản.

+Thuốc thử bổ sung: có chứa 0.099% sodium azide có tác dụng như chất bảo

quản.

Các mẫu QC được lấy từ huyết thanh của người tự nguyện khỏe mạnh đã sàng lọc các yếu tố nguy cơ gây nhiễm HIV, viêm gan B, C,...

Hóa chất được ổn định đến ngày ghi trên nắp hộp với điều kiện không mở nắp và bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C. Không được để trong ngăn đá của tủ lạnh

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm
- Găng tay
- Bông, cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh về mục đích của xét nghiệm.

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Thực hiện trên mẫu máu: Dùng huyết thanh (không dùng chất chống đông)
- Thực hiện trên mẫu nước tiểu tươi

Tính ổn định của mẫu: Mẫu ổn định 21 ngày/ nhiệt độ 2-8°C; nếu bảo quản lâu hơn / nhiệt độ (-20°C) hoặc thấp hơn nữa. Mẫu huyết thanh hoặc nước tiểu chỉ được chỉ được đông một lần

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

Dựng đường chuẩn: dựa trên 6 điểm với các nồng độ khác nhau

Phân tích QC: ở cả 2 level. Khi QC đạt mới tiến hành phân tích mẫu

#### **2.2. Phân tích mẫu**

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và vận hành theo protocol máy sẽ tự động phân tích



#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

##### 1. Trị số tham khảo

+ Huyết thanh người bình thường: Khi phân tích mẫu huyết thanh của 282 người tự nguyện, khỏe mạnh có độ tuổi từ 20 - 90 tuổi có kết quả theo bảng sau:

|                        | Trị số trung bình<br>(mg/L) | SD   | Khoảng 95 % bách<br>phân vị<br>(mg/L) |
|------------------------|-----------------------------|------|---------------------------------------|
| Kappa tự do            | 8.36                        | 7.3  | 3.3 – 19.4                            |
| Lambda tự do           | 13.43                       | 12.4 | 5.71 – 26.3                           |
| Tỷ số $\kappa/\lambda$ | 0.63                        | 0.6  | 0.26 – 1.65                           |

+ Nước tiểu người bình thường: Khi phân tích 66 mẫu nước tiểu người bình thường, tự nguyện khỏe mạnh có kết quả theo bảng sau:

|              | Trị số trung<br>bình | SD   | 95 % bách<br>phân vị | Tỷ số $\kappa/\lambda$ và<br>khoảng 95 %<br>Bách phân vị |
|--------------|----------------------|------|----------------------|----------------------------------------------------------|
| Kappa tự do  | 5.40 (mg/L)          | 4.95 | 0.39 – 15.1 (mg/L)   | 1.852                                                    |
| Lambda tự do | 3.17 (mg/L)          | 3.30 | 0.81 – 10.1 (mg/L)   | 0.461 - 4.00                                             |

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

##### - Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả khi:

Mẫu máu bị huyết tán, nồng độ bilirubin > 200mg/L.

Mẫu nước tiểu để lâu bị nhiễm khuẩn

##### - Xử trí

Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu, mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại, lấy mẫu máu khác thay thế.

## 103. ĐỊNH LƯỢNG KHÍ MÁU

### I. NGUYÊN LÝ

Khí máu động mạch là một xét nghiệm rất giá trị trong chẩn đoán, tiên lượng và theo dõi trong quá trình điều trị tại các khoa cấp cứu, hồi sức tích cực..., có thể chẩn đoán suy hô hấp, phản ánh tình trạng oxy hoá máu và thăng bằng kiềm toan trong máu. Kết quả khí máu có thể sẽ gợi ý nguyên nhân hoặc hướng điều trị.

Theo nguyên lý điện cực chọn lọc

Gồm 1 điện cực chuẩn (reference electrode) và các điện cực: Điện cực  $pO_2$ , Điện cực  $pCO_2$ , Điện cực pH

- Điện cực đo pH: điện cực quy chiếu là điện cực calomel. Khi mẫu bệnh phẩm đi qua điện cực thì ở bề mặt giữa điện cực và bệnh phẩm phát sinh điện thế mà trị số phụ thuộc vào nồng độ ion  $H^+$ .
- Điện cực đo áp suất riêng phần  $pCO_2$ :  $CO_2$  thấm qua một màng silicol đặc hiệu để tiếp xúc với dung dịch bicarbonat và làm thay đổi pH của dung dịch này. Do thay đổi pH như một pH kế. Kết quả biểu thị ra  $pCO_2$ .
- Điện cực chọn lọc  $O_2$ : điện cực platin được âm cực hóa so với điện cực quy chiếu.  $O_2$  thấm qua màng sẽ khử cực một phần bề mặt của catot và làm giảm điện trở của mạch điện. Cường độ dòng điện đo được tỷ lệ thuận với nồng độ  $O_2$  của dung dịch. Từ ba thông số được đo trực tiếp trên, máy đo khí máu tính toán ra các thông số khác như:  $HCO_3^-$ ,  $HCO_3^-$  chuẩn (SB), kiềm dư (BE), kiềm đệm (BB),... là những thông số cần thiết để đánh giá trạng thái toan-kiềm của người bệnh.
- Phân tích Hb có thể dựa theo phép đo quang

### II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

Máy phân tích khí máu: cobas b 221(Roche), máy Radiometer (Denmark); model gastat 1820 (Nhật bản) và một số máy khác

Dụng cụ lấy máu: được tráng Li-heparin, cần lấy máu vào dụng cụ chuyên dụng (tạo thành chu trình khép kín tránh bội nhiễm không khí từ bên ngoài vào) mẫu sau khi lấy được đóng nắp kín và chuyển ngay xuống PXN để phân tích. Ví dụ microsample (Roche diagnostic)

Kim lấy máu: dùng loại kim thích hợp

## **2.2. Hóa chất**

Ngoài các thông số khí máu, Nếu còn có thể phân tích thêm các thông số khác như: glucose, ure, lactat, natri, kali, .... thì cần thêm các bình hóa chất khác

S1: Rinse solution

S2: Fluid pack

S3: Fluid pack (khi đo các thông số glucose, lactat

Dung dịch deprotein

*(Hóa chất theo công ty Roche)*

## **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm; găng tay; Bông, cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

## **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà về mục đích và ý nghĩa của XN.

Người bệnh cần rửa tay sạch sẽ đặc biệt vị trí lấy máu.

Người nhà người bệnh cần hỗ trợ nếu cần thiết trong khi lấy máu chú ý sau khi lấy mẫu cần ấn chặt vị trí lấy máu từ 5-10 phút tránh khối máu tụ và chảy máu

## **3. Phiếu xét nghiệm**

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm: mẫu máu động mạch**

Mẫu máu được lấy vào dụng cụ chuyên biệt dành cho lấy khí máu, có tráng heparin (microsample).

Vị trí lấy máu động mạch: động mạch quay, động mạch cánh tay, động mạch bẹn, ...có thể lấy máu ở các buồng tim hoặc động mạch phổi khi đang phẫu thuật tim.

Mẫu máu sau khi lấy cần được đóng nắp kín (cần bảo quản lạnh) và chuyển khẩn trương xuống phòng xét nghiệm để phân tích ngay

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Máy cần được chuẩn tại 2 điểm

Chạy QC ở 3 mức: 1, 2 và 3. Chỉ tiến hành phân tích mẫu khi QCV đạt yêu cầu

Chọn mục phân tích mẫu máu, Thao tác theo protocol của máy.

Tháo nắp dụng cụ lấy mẫu, đưa mẫu vào vị trí, ấn nút hút mẫu, khi nạp đủ máy sẽ báo và tháo dụng cụ đựng mẫu ra, máy sẽ tự phân tích mẫu

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo

pH máu: 7.35 – 7.45

pCO<sub>2</sub>: 35-45 mmHg

PO<sub>2</sub>: 80 -100 mmHg

HCO<sub>3 std</sub>: 22 -28 mEq/L

SaO<sub>2</sub>: 94 – 100%

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Sai sót                                 | Xử trí                                  |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------|
| Lấy không đúng dụng cụ, mẫu máu bị đông | Cần dùng đúng dụng cụ, mẫu vừa đủ 2 càn |
| Lấy nhầm vào máu tĩnh mạch              | Làm pH giảm và độ bão hòa oxy giảm      |
| Mẫu máu bị nhiễm không khí              | Khi lấy mẫu xong phải đóng nắp luôn     |

## **104. ĐỊNH LƯỢNG LACTAT**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Lactat bị oxi hóa bởi lactat oxidase (LOD) tạo thành pyruvat và hydrogen peroxid. Một sản phẩm màu được tạo từ hydrogen peroxide vừa tạo thành, 4- aminoantipyrine và chất hydrogen donor (TOOS). Dưới tác dụng của peroxydase (POD). Sản phẩm màu được đo bằng máy đo quang. Độ đậm màu tỉ lệ với nồng độ Lactat có trong bệnh phẩm.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Kỹ thuật viên của phòng xét nghiệm có nhiệm vụ nhận và kiểm tra chất lượng của mẫu bệnh phẩm bằng cách đối chiếu với các tiêu chuẩn loại bỏ và thực hiện phân tích theo phương pháp đã được xác định.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700
- Máy ly tâm
- Hóa chất làm xét nghiệm Lactat (hãng Olympus )
- Huyết thanh kiểm tra mức 1 (QC mức bình thường)
- Huyết thanh kiểm tra mức 2 (QC mức bệnh lý)
- Chuẩn
- Nước cất

#### **3. Người bệnh**

Nồng độ lactate tăng trong máu khi hoạt động mạnh vì vậy người bệnh cần được nghỉ ngơi trước khi lấy mẫu.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Ghi đầy đủ thông tin cần thiết: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết tương hoặc dịch não tủy. Không sử dụng huyết thanh
- Huyết tương: sử dụng huyết tương chống đông bằng sodium fluoride oxalate-kali.

- Mẫu ổn định: ổn định trong 14 ngày khi bảo quản tại 2 đến 8°C và 8 giờ khi bảo quản tại 15 đến 25°C
- Phân tích mẫu ngay lập tức hoặc tách huyết tương và bảo quản lạnh ngay trong vòng 15 phút sau thu thập mẫu

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Ly tâm ống máu hoặc dịch não tủy trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.
- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy Beckman Coulter.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:
- Hàng ngày : Chạy 2 mức kiểm QC tra chất lượng hàng ngày vào buổi sáng và ít nhất sau mỗi 8 tiếng. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức QC nằm trong khoảng cho phép.
- Định kỳ : Chuẩn lại và chạy 2 mức QC sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Giá trị tham chiếu**

- Nồng độ lactate máu: Máu động mạch < 1.8 mmol/L

Máu tĩnh mạch 0.5- 2.2 mmol/L

- Nồng độ lactate dịch não tủy : 1.2- 2.1 mmol/L

### **2. Ý nghĩa lâm sàng**

Tăng lactate máu được chia làm 2 loại:

- Typ A : Do oxy cung cấp cho mô không đủ, tạo lactat quá mức. Nguyên nhân: Giảm tưới máu mô do giảm huyết áp, tăng tính thấm thành mạch, suy tim trái; Giảm bão hoà oxy mô do ngạt, thiếu oxy, ngộ độc CO, thiếu máu nặng.
- Typ B: không phải do thiếu oxy mà do suy giảm chuyển hoá hoặc giảm đào thải lactate.
  - + Mắc phải: nhiễm trùng huyết, suy thận, suy gan nặng, đái tháo đường nhiễm toan ceton, thuốc hoặc chất độc, vận cơ mạnh
  - + Di truyền: bệnh ty thể, ứ glycogen typ 1,2, 3, 5, 8; thiếu hụt fructose 1,6 diphosphatase và pyruvat carboxylase

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.**

## 105. ĐỊNH LƯỢNG Lambda (Phương pháp đo độ đục)

### I. NGUYÊN LÝ

Đa kháng thể là hỗn hợp các kháng thể chuyên biệt thu được từ việc tạo miễn dịch cho vật nuôi (đê) với các protein của người. Hiệu giá, tính ái lực và tính tinh khiết của các kháng thể này phù hợp trong phương pháp đo độ đục. Trong phương pháp này, các protein trong huyết thanh mẫu bệnh phẩm (Lambda) phản ứng với chất kháng thể đặc hiệu (kháng protein) tạo tủa làm đục dung dịch có thể đo mức độ đục bằng máy đo quang để tính ra nồng độ Lambda.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### - Bộ kit cung cấp

+ **Dung dịch 1:** chất hoạt hóa kháng thể      2 x 10 ml

+ **Dung dịch 2:** kháng huyết thanh      2 x 1 ml

+ **Dung dịch 3:** mẫu và chất chuẩn      2 x 10 ml

- Điều kiện bảo quản : 2-8°C cho đến khi hết hạn trên nhãn.

- Cảnh báo: tất cả các hóa chất đều chứa sodium azide <0.1%. Lưu ý cẩn thận, không được nuốt, tránh tiếp xúc với da và bề mặt hở.

#### 3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích làm xét nghiệm

#### 3. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Chuẩn bị hóa chất và mẫu bệnh phẩm

- Mẫu huyết thanh hoặc huyết tương

- Mẫu ổn định trong vòng 4 ngày (2-8°C), 4 tuần ở -20°C

- Để hóa chất và mẫu bệnh phẩm ở nhiệt độ phòng trước khi sử dụng

- Dung dịch 3: pha loãng 20 lần với mẫu và với chất chuẩn

- Vẽ đường chuẩn cho mẫu lần xét nghiệm

#### 2. Chuẩn bị đường chuẩn

- Để vẽ đường chuẩn, pha loãng chất chuẩn Lambda với dung dịch 3 để đạt được 5 mức nồng độ bao gồm giữa cho đến quá giới hạn đường tuyến tính

- Đường tuyến tính : 150-2000 mg/dl

### 3. Pha mẫu

Phân biệt các ống đo từ 1 đến 5 cho 5 ống chuẩn

Pha mẫu đo như sau:

|                                           | Mẫu    | Chuẩn  |
|-------------------------------------------|--------|--------|
| Dung dịch 1                               | 500 ul | 500 ul |
| Mẫu (đã pha loãng 20 lần)                 | 25 ul  | --     |
| Chất chuẩn (đã pha loãng 20 lần)          | --     | 25 ul  |
| Hòa trộn và đo độ hấp thu A1              |        |        |
| Dung dịch 2                               | 50 ul  | 50 ul  |
| Hòa trộn và đợi 10 phút, đo độ hấp thu A2 |        |        |

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Vẽ hệ thống Cartesian trên giấy đồ thị: Nồng độ theo chiều ngang ( trục X) với đơn vị là mg/dl và độ hấp thu theo chiều dọc (trục Y)
- Đánh dấu Hiệu các độ hấp thu (A2- A1) của 5 mức chuẩn trong so sánh tương quan nồng độ
- Vẽ đường đi qua 5 điểm
- Đánh dấu giá trị hấp thu (A2- A1) của mẫu để suy ra nồng độ
- Chỉ số tham khảo: nồng độ chuỗi Lambda 330-720 mg/dl

### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng MSDS để tham khảo các hóa chất nguy hiểm
- Giá trị đo được là giá trị tổng của toàn bộ chuỗi protein; chia 3 để đạt được giá trị nồng độ của chuỗi nhẹ.



## 106. ĐỊNH LƯỢNG CHUỖI LAMBDA TỰ DO

### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng chuỗi nhẹ Lambda tự do có thể hỗ trợ lâm sàng trong chẩn đoán và theo dõi bệnh đa u tủy xương, u lympho, bệnh đại phân tử Waldenström, thoái hóa dạng tinh bột amyloid, bệnh lắng đọng chuỗi nhẹ và các bệnh mô liên kết như lupus ban đỏ hệ thống.

Nguyên lý: Dựa trên nguyên lý miễn dịch. Sử dụng phương pháp miễn dịch đo độ đục có tăng cường các vi hạt latex. Chuỗi nhẹ Lambda tự do có trong mẫu huyết thanh hoặc nước tiểu sẽ kết hợp với các vi hạt latex đã được bao phủ trên bề mặt bởi lớp kháng thể kháng Lambda, tạo thành phức hợp ngưng kết miễn dịch. Do lượng các kháng thể là dư thừa nên phức hợp miễn dịch được hình thành tỷ lệ thuận với nồng độ kháng nguyên (chất cần phân tích). Tiến hành xác định độ đục của phức hợp này bằng phương pháp đo quang bước sóng 600 nm. Dựa trên đường cong chuẩn để tính được nồng độ chuỗi nhẹ Lambda tự do cần phân tích trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh, miễn dịch và 01 kỹ thuật viên

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Các máy phân tích hóa sinh như AU 400, 640, 2700, 5800 và một số máy khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, ống sample cup
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

##### 2.2. Hóa chất

- Thuốc thử 1 (R1): Có các kháng thể đặc hiệu bao phủ lên các vi hạt latex. Chất bảo quản: 0.05% ProClin™, 0.1% E-amino-n-caproic acid (EACA) và 0.01% benzamidine
- Thuốc thử 2 (R2): Dung dịch chuẩn có nguồn gốc từ huyết thanh người có chứa kháng nguyên đa giá của chuỗi nhẹ Lambda tự do. Được đóng lọ dưới dạng dung dịch có tính ổn định cao có chứa 0.099% Natri azide, 0.1% EACA và 0.01% benzamidine có tác dụng như chất bảo quản.

- Thuốc thử bổ sung: có chứa 0.099% sodium azide có tác dụng như chất bảo quản.
- Các mẫu QC được lấy từ huyết thanh của người tự nguyện khỏe mạnh đã sàng lọc các yếu tố nguy cơ gây nhiễm HIV, viêm gan B, C,...

Hóa chất được ổn định đến ngày ghi trên nắp hộp với điều kiện không mở nắp và bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C. Không được để trong ngăn đá của tủ lạnh

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm
- Găng tay
- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích mục đích của xét nghiệm để người bệnh và người nhà bệnh BN hiểu, từ đó có thể hợp tác trong quá trình lấy máu.

**4. Phiếu xét nghiệm:** Theo quy định, có chỉ định làm xét nghiệm Lambda tự do.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Thực hiện trên mẫu máu: Dùng huyết thanh (không dùng chất chống đông)
- Thực hiện trên mẫu nước tiểu tươi

Tính ổn định của mẫu: Mẫu ổn định 21 ngày/ nhiệt độ 2-8°C; nếu bảo quản lâu hơn ở nhiệt độ (-20°C) hoặc thấp hơn nữa. Mẫu huyết thanh hoặc nước tiểu chỉ được chỉ được đông một lần

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

Dụng cụ chuẩn: dựa trên 6 điểm với các nồng độ khác nhau

Phân tích QC: ở cả 2 level. Khi QC đạt mới tiến hành phân tích mẫu

#### **2.2. Phân tích mẫu**

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và vận hành theo protocol máy sẽ tự động phân tích

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

**Trị số tham khảo:**

+ Huyết thanh người bình thường: Khi phân tích mẫu huyết thanh của 282 người tự nguyện, khỏe mạnh có độ tuổi từ 20 - 90 tuổi có kết quả theo bảng sau:

|                        | <b>Trị số trung bình</b><br>(mg/L) | <b>SD</b> | <b>Khoảng 95 % bách phân vị</b><br>(mg/L) |
|------------------------|------------------------------------|-----------|-------------------------------------------|
| Kappa tự do            | 8.36                               | 7.3       | 3.3 – 19.4                                |
| Lambda tự do           | 13.43                              | 12.4      | 5.71 – 26.3                               |
| Tỷ số $\kappa/\lambda$ | 0.63                               | 0.6       | 0.26 – 1.65                               |

+ Nước tiểu người bình thường: Khi phân tích 66 mẫu nước tiểu người bình thường, tự nguyện khỏe mạnh có kết quả theo bảng sau:

|              | <b>Trị số trung bình</b> | <b>SD</b> | <b>95 % bách phân vị</b> | <b>Tỷ số <math>\kappa/\lambda</math> và khoảng 95 % Bách phân vị</b> |
|--------------|--------------------------|-----------|--------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Kappa tự do  | 5.40 (mg/L)              | 4.95      | 0.39 - 15.1 (mg/L)       | 1.852                                                                |
| Lambda tự do | 3.17 (mg/L)              | 3.30      | 0.81 - 10.1 (mg/L)       | 0.461 – 4.00                                                         |

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả khi:

Mẫu máu bị huyết tán, nồng độ bilirubin > 200mg/L.

Mẫu nước tiểu để lâu bị nhiễm khuẩn.

- Xử trí: Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu, mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại lấy mẫu máu khác thay thế.

## 107. ĐỊNH LƯỢNG LEPTIN

Leptin là một hormone có trọng lượng phân tử 16 kDa gồm 167 axit amin, đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh năng lượng ăn vào và năng lượng tiêu thụ, bao gồm cả sự thèm ăn/đói và quá trình trao đổi chất. Nó là một trong những hormone có nguồn gốc từ mỡ quan trọng nhất. Gen Ob(Lep) trong đó Ob là obese, và Lep là leptin nằm trên nhiễm sắc thể số 7 của người. Leptin tác động lên các thụ thể trong vùng dưới đồi của não để ức chế sự thèm ăn. Sự vắng mặt của leptin (hoặc thụ thể của nó) dẫn đến không kiểm soát được lượng thức ăn và dẫn đến béo phì.

## I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng leptin trong huyết thanh và huyết tương người.

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên-kháng thể theo phương pháp sandwich: các giếng được phủ với kháng thể đơn dòng đặc hiệu cho leptin. Mẫu người bệnh có chứa leptin sẽ được ủ trong các giếng cùng với antiserum (kháng thể liên hợp biotin đơn dòng). Một phức hợp sandwich hình thành. Sau khi ủ và rửa đi những phần không kết hợp, enzym liên hợp được thêm vào, tiếp là cơ chất và cuối cùng là thêm dung dịch ngừng phản ứng. Độ đậm màu tỉ lệ thuận với nồng độ leptin trong mẫu, được đo ở bước sóng 450 nm.

## II. CHUẨN BỊ

## 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

## 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng DRG, Đức (EIA-2395)
  - + Đĩa phản ứng (96 giếng) + Enzym liên hợp
  - + Chuẩn: 6 lọ (dạng đông khô) + Cơ chất
  - + Control cao và thấp (dạng đông khô) + Dung dịch rửa
  - + Dung dịch đệm + Dung dịch ngừng phản ứng
  - + Antiserum
- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
  - + Pipet chính xác + Các tube
  - + Đầu côn pipet dùng một lần + Nước cất

### 3. Người bệnh

Người bệnh không cần nhịn đói hay đòi hỏi yêu cầu gì đặc biệt

### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi thông tin đầy đủ của người bệnh.

## III. Các bước tiến hành

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương

+ Huyết thanh: Thu thập máu, để co cục máu hoàn toàn, ly tâm ở nhiệt độ phòng. Những người bệnh dùng thuốc chống đông cần để thời gian co cục máu lâu hơn.

+ Huyết tương: Ly tâm ngay sau khi thu thập máu vào ống có chất chống đông.

- Bảo quản: Mẫu nên được tách tube và bảo quản ở 2 - 8° C trong 24 giờ, lâu hơn ở - 20° C, mẫu sau khi rã đông nên được lắc đều trước khi dùng.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### 2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

##### 2.1.1. Dung dịch rửa:

Hòa 30 ml dung dịch rửa với 1170 ml nước cất để được dung dịch 1200 ml.

Sau khi pha, ổn định 2 tuần ở nhiệt độ phòng.

##### 2.1.2. Chuẩn:

- Nồng độ chuẩn từ S0 - S5 lần lượt là: 0 ng/mL; 2 ng/mL; 5 ng/mL; 25 ng/mL; 50 ng/mL; 100 ng/mL

- Cho 0,5 ml nước cất vào lọ chuẩn (dạng đông khô), để tối thiểu 10 phút, lắc đều trước khi sử dụng.

- Ổn định ít nhất 6 tuần khi bảo quản ở 2 - 8° C, lâu hơn ở - 20° C

##### 2.1.3. Control: Lot: 2395

- Control mức thấp : 1,62 - 4,28 ng/mL và Control mức cao: 51,52 - 76,20 ng/mL

- Cho 0,5 ml nước cất vào lọ Control (dạng đông khô), để tối thiểu 10 phút, lắc đều trước khi sử dụng.

- Ổn định ít nhất 6 tuần khi bảo quản ở 2 - 8° C, lâu hơn ở - 20° C

### 2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng 210 phút.
- Vệ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

- + Hút 15  $\mu$ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- + Hút 100  $\mu$ l dung dịch đệm tiếp vào các giếng. Trộn đều trong 10 giây.
- + Ủ 120 phút trong nhiệt độ phòng
- + Rửa các giếng 3 lần với 300  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100  $\mu$ l Antiserum vào mỗi giếng
- + Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng
- + Rửa các giếng 3 lần với 300  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 100  $\mu$ l enzym liên hợp vào mỗi giếng
- + Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng
- + Rửa các giếng 3 lần với 300  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100  $\mu$ l cơ chất vào mỗi giếng.
- + Ủ 15 phút ở nhiệt độ phòng.
- + Hút 50  $\mu$ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng
- + Tiến hành đo trong vòng 10 phút

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham khảo:

Nam: 2,05 - 5,63 ng/mL      Nữ: 3,63 - 11,09 ng/mL

- Ý nghĩa lâm sàng:

+ Mức độ leptin giảm sau khi nhịn ăn ngắn hạn (24 -72 giờ), béo phì, mất ngủ, tập thể dục...

+ Mức độ leptin tăng khi bị căng thẳng cảm xúc...

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

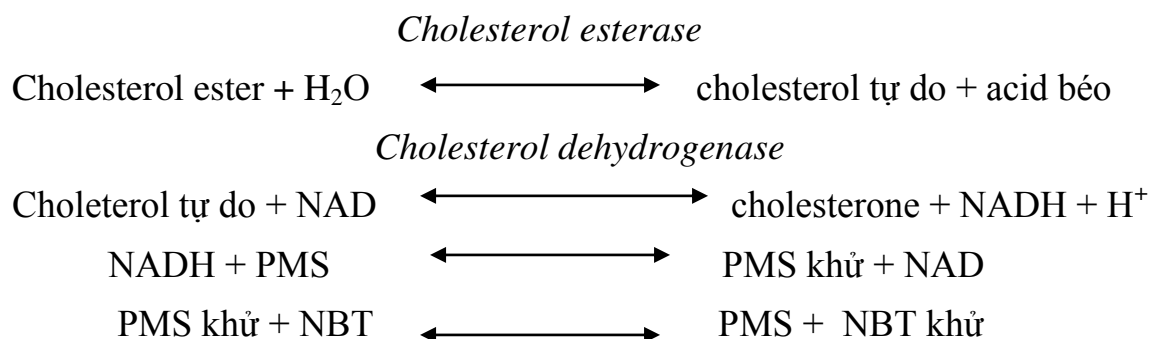
- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Không dùng mẫu có chứa Natri azide

- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút).
- Mẫu có kết quả vượt quá 100 ng/mL thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch S0.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

## 108. ĐIỆN DI LDL/HDL - CHOLESTEROL

### I. NGUYÊN LÝ

Điện di trên gel agarose để tách các thành phần LDL, VLDL, HDL cũng như chylomicron dựa trên độ tích điện và khối lượng phân tử của các thành phần. Các thành phần được phát hiện bằng phản ứng enzym so màu sau đây:



### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, Cử nhân, hoặc kỹ thuật viên được tập huấn sử dụng máy

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**2.1. Phương tiện:** Máy Hydrasys của hãng Sebia Pháp

**2.2. Hóa chất:** Được cung cấp bởi hãng đặt máy, gồm

+ Agarose gel: Gel có chứa agarose 0,65g/dL; kiềm đệm pH 8,9±0,1. Lưu trữ các gel theo chiều ngang trong bì ở nhiệt độ phòng (15-30°C) hoặc lạnh (2-8°C), ổn định cho đến ngày hết hạn ghi trên gói kit. Tránh lưu trữ gần cửa sổ hoặc một nguồn nhiệt.

Loại bỏ khi:

Dạng tinh thể hoặc dạng tủa trên bề mặt gel hoặc kết cấu gel trở nên rất mềm.

Sự phát triển của vi khuẩn hay nấm mốc

Số lượng bất thường của chất lỏng ở mặt trong hộp gel

+ Dung dịch đệm: chứa natri acid 0,3% khi tiếp xúc với da, hãy rửa ngay với thật nhiều nước. Lưu trữ các dải đệm theo chiều ngang trong bao bì bảo vệ ban đầu, trong tủ lạnh (2-8°C). Chúng ổn định cho đến ngày hết hạn ghi trên gói kit hoặc đệm nhãn gói dải. Vứt bỏ đệm dải nếu gói được mở ra và các dải khô.



+ Dung môi hòa tan cơ chất: gồm NaCl. Lưu trữ dung môi hòa tan cơ chất ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh, ổn định đến ngày hết hạn ghi trên gói bộ hoặc bề mặt lọ. Loại bỏ dung môi nếu trở nên đục do nhiễm khuẩn.

+ Chromogen: gồm NitroBlue Tetrazolium và Phenazine Methosulfate. Lưu trữ chromogen ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh, ổn định đến ngày hết hạn ghi trên gói kit. Loại bỏ nếu nó trở nên đục do nhiễm khuẩn.

+ Enzym: Mỗi lọ enzym chứa Cholesterol Esterase, Cholesterol Dehydrogenase, Nicotinamide Adenine Dinucleotide. Enzym lưu trữ trong tủ lạnh (2 – 8°C). Chúng được ổn định đến ngày hết hạn ghi trên gói kit.

#### HYDRAGEL LDL / HDL Chol

- Applicator: dùng 1 lần, lưu trữ ở nơi khô ráo, ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh.

- Giấy lọc mỏng: dùng một lần, để thấm độ ẩm quá mức khỏi bề mặt gel trước khi thực hiện mẫu. Lưu trữ các giấy tờ lọc mỏng ở nơi khô ráo, ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh.

- Giấy lọc dày: dùng một lần, để thấm dung dịch thừa ra khỏi bề mặt gel trước khi rửa. Lưu trữ ở nơi khô ráo ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ lạnh.

### 3. Người bệnh

Gồm những người bệnh khám và điều trị tại bệnh viện được các bác sĩ lâm sàng chỉ định.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Theo mẫu quy định của bệnh viện và Bộ Y tế

Cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán, ghi rõ chỉ định xét nghiệm, thời gian lấy mẫu, loại mẫu...

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

Dùng Huyết thanh, lấy mẫu ở những người bệnh nhịn ăn ít nhất 12 giờ. Bảo quản mẫu 2-8°C, thực hiện càng sớm càng tốt sau khi thu thập và < 3 ngày. Không làm đông lạnh các mẫu. Không sử dụng các mẫu được thu thập trên ống heparin.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Bật máy HYDRASYS
- Nhỏ 10µl mẫu trong từng giếng, nhỏ mẫu trong vòng 2 phút.
- Đặt applicator vào buồng hút ẩm
- Mẫu khuếch tán vào những răng của applicator trong 5 phút.

- Chọn chương trình chạy điện di trên màn hình của máy
  - Mở dải đệm từ gói bảo quản, mở tấm gel agarose.
  - Dùng giấy lọc mỏng để hấp thụ lượng dư thừa của dung dịch bảo quản. Lấy giấy ra ngay lập tức.
  - Nhỏ 120 $\mu$ l nước cất, đặt tấm gel, kết thúc ở viên dưới cùng của khung, chú ý không có bọt khí bị mắc kẹt, nước được lan truyền bên dưới toàn bộ tấm gel và gel được xếp với khung in.
  - Đặt điện cực vào giá đỡ ở vị trí số 3
- Đóng nắp module và nhấn "START" trên màn hình máy.
- Sau đó là quá trình sấy khô, rửa, nhuộm, scan và phân tích kết quả.
- Trong mỗi lần thực hiện kỹ thuật nên thực hiện kèm 1 mẫu Control.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Đo mật độ quang ở bước sóng 570nm, tính được nồng độ tương đối (phần trăm) giữa các dải. Các thành phần có thể khác nhau. Điều này phụ thuộc vào sự có mặt hay vắng mặt của VLDL.

Tính HDL cholesterol và nồng độ cholesterol LDL với các công thức sau đây:

Cholesterol toàn phần (mg/dL hoặc mmol/L) x tỷ lệ phần trăm HDL

Cholesterol toàn phần (mg/dL hoặc mmol/L) x tỷ lệ phần trăm LDL

|     | Cholesterol toàn phần                   | HDL cholesterol<br>(HYRYS - GELSCAN)    | LDL cholesterol<br>(HYRYS - GELSCAN)    |
|-----|-----------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|
| Nữ  | $\leq 2,00$ g/L hoặc $\leq 5,17$ mmol/L | 0,40 - 1,00 g/L hoặc 1,03 - 2,59 mmol/L | 0,66 - 1,36 g/L hoặc 1,70 - 3,53 mmol/L |
| Nam | $\leq 2,00$ g/L hoặc $\leq 5,17$ mmol/L | 0,33 - 0,84 g/L hoặc 0,84 - 2,17 mmol/L | 0,69 - 1,49 g/L hoặc 1,79 - 3,84 mmol/L |

Các yếu tố nguy cơ khác bao gồm tuổi, tiền sử gia đình bệnh tiểu đường, bệnh mạch vành, tăng huyết áp và hút thuốc lá.

Người ta đã ghi nhận rằng nguy cơ các bệnh tim mạch tăng lên với sự gia tăng tỷ lệ phần trăm của lipoprotein trọng lượng phân tử thấp trong huyết thanh. Mặt khác, Lipoprotein trọng lượng phân tử cao (HDL) chống xơ vữa động mạch bằng cách loại bỏ cholesterol từ các mô gan là cơ quan duy nhất có thể dị hóa và bài tiết. Thành phần lipid, như cholesterol, có thể đóng vai trò khác nhau tùy thuộc vào lipoprotein đã vận chuyển nó. Vì vậy, để đánh giá nguy cơ bệnh tim của một rối loạn lipoprotein máu, là

cần thiết để định lượng cholesterol trong các phân đoạn lipoprotein, chủ yếu là LDL và HDL.

Nghiên cứu gần đây tại Viện Y tế Quốc gia (NIH Bethesda, Mỹ) đã chỉ ra rằng nguy cơ phát triển bệnh xơ vữa động mạch vành có liên quan đến tỷ lệ LDL cholesterol / HDL cholesterol: tỷ lệ càng cao, nguy cơ càng cao. Trong trường hợp cholesterol máu thấp hơn bình thường là điều cần thiết để điều tra sự phân bố cholesterol trong lipoprotein khác nhau trước khi quyết định bất kỳ điều trị.

## **V. SAI SÓT – XỬ TRÍ**

- Không sử dụng các mẫu được thu thập trên ống heparin, hoặc đã được đông lạnh
- Ngày nay định lượng LDL-C và HDL-C trực tiếp trên máy sinh hóa tự động cho kết quả nhanh và chính xác hơn điện di, tuy nhiên thành phần VLDL không định lượng được nên có thể áp dụng phương pháp điện di này để tính giá trị VLDL tương đối, giúp cho các bác sĩ lâm sàng.

## 109. ĐO HOẠT ĐỘ LIPASE

### I. NGUYÊN LÝ

Lipase là enzyme thủy phân lipid.

Hoạt độ của enzym Lipase trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp enzym so màu theo phản ứng :

*Lipase*

1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6-methylresorufin) ester =>

1,2-O-dilauryl-rac-glycerol + glutaric acid-(6-methylresorufin) ester.

Glutaric acid-(6-methylresorufin) ester => glutaric acid + methylresorufin.

Cường độ màu (màu đỏ) hình thành tỷ lệ thuận với hoạt độ Lipase và có thể đo được ở bước sóng 570 nm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Lipase, chất chuẩn Lipase, chất kiểm tra chất lượng Lipase.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH<sub>4</sub>-heparin hoặc EDTA (nếu dùng EDTA, kết quả thấp hơn 5-10% so với huyết thanh). Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 7 ngày ở 15°C đến 25°C, 1 năm ở -15°C đến -25°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Lipase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Lipase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Lipase đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ Trị số bình thường: 13 - 60 U/L

+ Lipase máu tăng trong: Bệnh tụy viêm tụy cấp Lipase tăng cao và trở về bình thường chậm hơn Amylase. Tắc ống dẫn tụy do sỏi hay co thắt. Ngoài ra còn tăng trong các bệnh như thủng, u đường tiêu hóa nhất là có liên quan đến tụy. Tổn thương tổ chức mỡ sau chấn thương, một số trường hợp xơ gan.

Lipase huyết tương luôn bình thường trong bệnh quai bị.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026  $\mu$ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1000 mg/dL .

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

## 110. ĐỊNH LƯỢNG LH (Luteinizing hormone)

LH là hormone sinh dục do tuyến yên tiết ra, có tác dụng làm phát triển cả về kích thước và chức năng tuyến sinh dục (buồng trứng, tinh hoàn). Là một glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 29 500 dalton. Ở nữ, LH hoạt động theo trục vùng dưới đồi, tuyến yên, buồng trứng và nồng độ thay đổi theo chu kỳ kinh nguyệt. Nồng độ cao nhất vào giữa chu kỳ kinh nguyệt, gây rụng trứng và tạo hoàng thể. Kích thích sản xuất progesterone và testosterone.

### I. NGUYÊN LÝ

LH được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. LH trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng LH từ chuột, gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng LH từ chuột, được đánh dấu bằng ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ LH có trong mẫu thử.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện:

Bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8°C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: ba mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

**3. Người bệnh:** được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng

**4. Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc

huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C trong vòng 14 ngày, ở - 20<sup>0</sup>C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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.

## **IV.NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Bình thường: Nam giới: 1.7 – 8.6 mIU/ml

Nữ giới :

Pha nang: 3.4- 12.6 mIU/ml

Pha rụng trứng : 14.0 – 95.6 mIU/ml

Thể vàng : 1.0 – 11.4 mIU/ml

Tiền mãn kinh : 7.7 – 58.5 mIU/ml

- LH máu tăng trong:

- + Dậy thì sớm do nguyên nhân dưới đồi yên
- + Mang thai
- + Thiếu năng buồng trứng hay tinh hoàn
- + Mãn kinh sớm
- + Hội chứng Klinefelter (XXY), Hội chứng Turner

- LH máu giảm trong:

- + Thiếu năng vùng dưới đồi yên.
- + Suy thùy trước tuyến yên.

Suy tinh hoàn, tăng sản hay u thượng thận

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Nguyên nhân                                                                                              | Sai sót                                             | Xử trí                                                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Bệnh phẩm lấy và ống sodium citrate                                                                      | Kết quả thấp hơn so với dùng huyết thanh khoảng 10% | Không dùng loại chất chống đông này                                  |
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 1129 $\mu\text{mol/L}$ , huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng biotin | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm              | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ > dải đo (0,1-200mIU/mL)                                                                         | Sai lệch kết quả                                    | Pha loãng bệnh phẩm                                                  |
| Nồng độ > 1150 mIU/mL                                                                                    | Hiệu ứng hook-effect                                | Pha loãng bệnh phẩm                                                  |



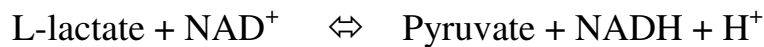
## 111. ĐO HOẠT ĐỘ LDH (Lactate dehydrogenase)

### I. NGUYÊN LÝ

LDH (Lactate dehydrogenase) là enzym ở mọi tế bào, đặc biệt có nhiều ở gan, tim, cơ xương....LDH là enzym xúc tác biến đổi Pyruvat thành Lactat, phản ứng cần coenzym là NADH. Xét nghiệm LDH thường được chỉ định trong bệnh lý gan, tim...

Hoạt độ của enzym LDH trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym.

#### LDH



Dưới tác dụng của LDH, lactate và  $\text{NAD}^+$  được biến đổi thành pyruvat và NADH. Hoạt độ của LDH được đo bằng sự gia tăng của NADH theo thời gian ở bước sóng 340 nm..

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm LDH, chất chuẩn LDH, chất kiểm tra chất lượng LDH.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay  $\text{NH}_4$ -Heparin. Không dùng các chất chống đông khác cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 4 ngày ở  $2-8^\circ\text{C}$ , 7 ngày ở  $15^\circ\text{C}$  đến  $25^\circ\text{C}$ , 6 tuần ở  $-15^\circ\text{C}$  đến  $-25^\circ\text{C}$ .

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm LDH. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm LDH. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm LDH đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ Trị số bình thường: 240-480 U/L.

+ LDH máu tăng trong: Nhồi máu cơ tim, nhồi máu phổi, Bệnh gan (vàng da tắc mật, di căn ung thư, viêm gan cấp), Bệnh cơ (chấn thương, phẫu thuật), Thiếu máu ác tính, Bệnh bạch cầu đơn nhân, Leucemia, Ung thư (phổi, xương, ruột non, gan, vú, cổ tử cung, tinh hoàn, thận, dạ dày).

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026  $\mu$ mol/L.

+ Tán huyết: Không dùng mẫu bệnh phẩm tán huyết ở bất kỳ mức độ nào cho xét nghiệm LDH.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1000 mg/dL .

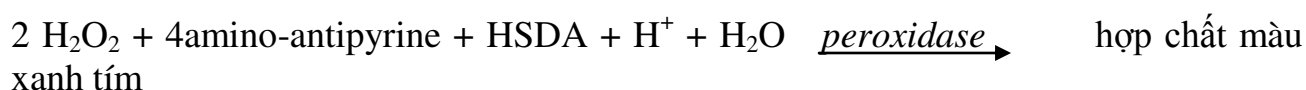
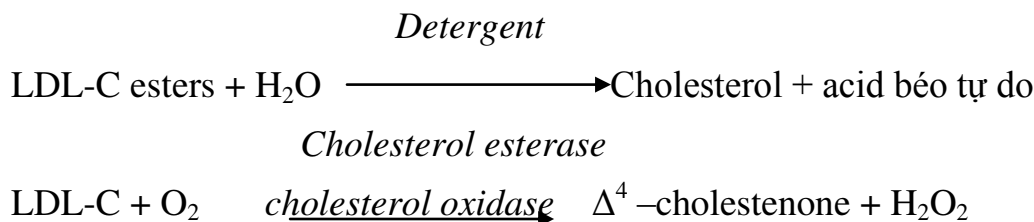
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

## 112. ĐỊNH LƯỢNG LDL-C (Low Density Lipoprotein 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



### 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<sup>0</sup>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 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<sup>0</sup>C trong vòng 7 ngày, ở - 60<sup>0</sup>C được 1 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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        |

## 113. ĐIỆN DI LIPOPROTEIN

### I. NGUYÊN LÝ

Dùng dòng điện 1 chiều để dịch chuyển các tiểu phân tử lipoprotein trên môi trường gel dựa trên lực Lorenz. Những phân tử khác nhau sẽ dịch chuyển với tốc độ khác nhau mà ta có thể quan sát được trên điện di đồ.

Tốc độ di chuyển này được quyết định bởi 3 yếu tố: điện tích, kích thước và khối lượng phân tử.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy điện di tự động.
- Hóa chất: Hóa chất được bảo quản ở 2- 8<sup>0</sup>C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

#### 5. Bệnh phẩm

Lấy 3 ml máu vào ống không chống đông

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Ly tâm tách huyết thanh

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di lipoprotein.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm điện di lipoprotein theo protocol của máy.
- Tiến hành chuẩn điện di lipoprotein.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di lipoprotein. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo protocol của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Trị số bình thường:**

- $\alpha$ -lipoprotein:  $32,8 \pm 7,7\%$ ;
- Pre $\beta$ -lipoprotein:  $22,6 \pm 8,1\%$
- $\beta$ -lipoproterin:  $44,2 \pm 7,0\%$

##### **2. Điện di lipoprotein thay đổi trong:**

Rối loạn chuyển hóa lipid

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Mẫu máu phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, không có chứa chất chống đông, bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## **114. ĐỊNH LƯỢNG LP – PLA2**

### **(Lipoprotein - associated phospholipase A2)**

Lp-PLA2 là một lipoprotein kết hợp với phospholipase A2 (Lp-PLA2) có trọng lượng phân tử 45 kDa, gồm 441 axit amin. Trong máu, nó di chuyển chủ yếu dưới dạng kết hợp lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL). Dưới 20% được kết hợp với lipoprotein tỷ trọng cao (HDL). Nó là một loại enzyme được sản xuất bởi các tế bào viêm và thủy phân phospholipids trong LDL. Nó như một chỉ điểm viêm đặc hiệu cho mạch máu, có liên quan đến sự hình thành các mảng xơ vữa giòn, dễ vỡ.

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng Lp-PLA2 trong huyết thanh và huyết tương người.

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên-kháng thể, theo phương pháp sandwich: các giếng được phủ kháng thể đặc hiệu cho Lp-PLA2 người. Standard, mẫu và Biotin-kháng thể được thêm vào, Lp-PLA2 trong mẫu kết hợp với kháng thể phủ trên giếng và Biotin-kháng thể mới được thêm vào. Sau khi rửa đi các Biotin-kháng thể không kết hợp, HRP- Avidin liên hợp được thêm vào. Tiếp sau khi các giếng được rửa lần hai, cơ chất TMB được thêm vào giếng. Tiếp theo, dung dịch ngừng phản ứng thêm vào sẽ chuyển từ màu xanh sang vàng, đậm độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ Lp-PLA2 trong mẫu thử, được đo ở bước sóng 450 nm.

#### **II. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng Cusabio (CSB-E08319h)
- Đĩa phản ứng (96 giếng)
- Biotin-kháng thể
- Chuẩn (dạng đông khô)
- Avidin-HRP
- Dung dịch hòa loãng mẫu
- Dung dịch rửa
- Dung dịch hòa loãng Biotin-kháng thể

- Cơ chất TMB
- Dung dịch hòa loãng Avidin-HRP
- Dung dịch ngừng phản ứng

Trong đó: Avidin-HRP là Avidin liên kết với HRP (Horseradish Peroxidase). TMB: 3,3',5,5' tetramethyl-benzidine.

- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
- + Pipet chính xác
- + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một lần
- + Nước cất
- + Control mức cao và thấp

### 3. Người bệnh

- Không cần nhịn đói hay yêu cầu đặc biệt gì khác.
- Một số đối tượng mà BS thường chỉ định xét nghiệm này: Người bệnh tai biến mạch máu não, rối loạn Lipid máu, tăng huyết áp, nhồi máu cơ tim, đột quỵ...

### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

## III. Các bước tiến hành

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng citrate, EDTA, heparin.
- Huyết thanh : sau khi lấy mẫu thì để 30 phút, co cục máu, rồi ly tâm 3000 vòng/phút x 10 phút. Tách ngay ra tube và bảo quản ở - 20° C. Khi chạy mẫu thì ly tâm lại sau khi làm rã đông. Chỉ rã đông một lần.
- Huyết tương: tương tự như trên nhưng phải ly tâm ngay sau khi lấy mẫu, không để quá 30 phút.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### 2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

##### 2.1.1. Dung dịch rửa

Hòa 20 ml dung dịch rửa với nước cất để được dung dịch 500 ml.

##### 2.1.2. Chuẩn (S0-S7)

- Ly tâm lọ chuẩn (dạng đông khô) với tốc độ 6000 vòng / phút trong 30 giây.



- Thêm 1ml dung dịch hòa loãng vào lọ chuẩn (dạng đông khô) để được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 200 IU/mL (S7), để ít nhất 15 phút, lắc đều.

- Hòa tiếp nhiều lần để được các dung dịch chuẩn trực dụng (S6-S1) có nồng độ lần lượt là 100 IU/mL; 50 IU/mL; 25 IU/mL; 12,5 IU/mL; 6,25 IU/mL; 3,12 IU/mL. S0 có nồng độ 0 IU/mL.

#### **2.1.3. Biotin-antibody:** (Biotin gắn với kháng thể)

Pha theo tỉ lệ Biotin-kháng thể : Dung dịch hòa loãng Biotin-kháng thể là 1:100

#### **2.1.4. Avidin-HRP:**

Pha theo tỉ lệ Avidin-HRP : Dung dịch hòa loãng Avidin-HRP là 1:100

### **2.2. Tiến hành**

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.

- Tổng thời gian làm xét nghiệm Lp-PLA2 khoảng 470 phút.

- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu

Các bước tiến hành như sau:

+ Hút 100 µl mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng

+ Ủ 120 phút ở 37° C

+ Loại bỏ chất lỏng, không rửa

+ Hút 100 µl dung dịch Biotin-kháng thể trực dụng vào mỗi giếng

+ Ủ 60 phút ở 37° C

+ Rửa các giếng 3 lần với 200 µl dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.

+ Hút 100 µl dung dịch Avidin-HRP trực dụng vào mỗi giếng

+ Ủ 60 phút ở 37° C.

+ Rửa các giếng 3 lần với 200 µl dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.

+ Hút 90 µl cơ chất TMB vào mỗi giếng

+ Ủ 10 - 30 phút ở 37° C.

+ Hút 50 µl dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng

+ Tiến hành đo trong vòng 30 phút

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham khảo:

Người lớn: 3,49 – 14,70 IU / mL

- Ý nghĩa lâm sàng: Lp – PLA2 tăng thì

- + Dự báo nguy cơ bệnh mạch vành và đột quỵ thường kết hợp với xơ vữa động mạch.
- + Có nguy cơ đột quỵ và nhồi máu cơ tim tăng gấp đôi
- + Cùng với huyết áp tâm thu cao nhất có nguy cơ đột quỵ tăng gấp 6 lần.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Mẫu có kết quả  $> 100 \text{ IU/mL}$  thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch hòa loãng.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

## 115. ĐỊNH LƯỢNG MDA (Malondialdehyde)

Malondialdehyde (MDA) là một hợp chất hữu cơ với công thức.

$\text{CH}_2(\text{CHO})_2$ . Loại phản ứng này xảy ra tự nhiên và là một dấu ấn sinh học của tình trạng stress oxy hóa. MDA được tạo ra từ các phản ứng oxy hóa acid béo không bão hòa. MDA phản ứng với deoxyadenosine và deoxyguanosine trong ADN, tạo thành các sản phẩm, chủ yếu là  $\text{M}_1\text{G}$  gây đột biến.

### I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng MDA trong huyết thanh và huyết tương người

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên - kháng thể, theo phương pháp cạnh tranh: các giếng được phủ bởi kháng thể đặc hiệu cho MDA. Standard, control và mẫu được thêm vào các giếng cùng với HRP-liên hợp rồi được ủ. Một phản ứng cạnh tranh xảy ra giữa MDA (trong mẫu, standard, control) và HRP-liên hợp để kết hợp với kháng thể phủ trên giếng. Lượng MDA trong mẫu càng nhiều thì lượng kháng thể kết hợp với HRP-liên hợp càng ít. Sau đó cơ chất được thêm vào giếng, rồi dung dịch ngừng phản ứng được thêm vào.

Đậm độ màu tỉ lệ nghịch với nồng độ MDA trong mẫu thử, được đo với bước sóng 450 nm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng Cusabio (CSB-E08557h)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Cơ chất A
- + Chuẩn (S1- S5): 1ml
- + Cơ chất B
- + HRP-liên hợp
- + Dung dịch ngừng phản ứng
- + Dung dịch rửa

Trong đó: HRP(horseradish peroxidase) là chất đánh dấu

- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
- + Pipet chính xác
- + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một lần
- + Nước cất
- + Control mức cao và mức thấp

### **1. Người bệnh**

Người bệnh không cần nhịn đói hay yêu cầu đặc biệt gì

### **2. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế qui định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

## **III. Các bước tiến hành**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng citrate, EDTA, heparin.
- Huyết thanh : sau khi lấy mẫu thì để 30 phút, co cục máu, sau đó ly tâm 3000 vòng/10 phút. Tách ngay ra tube và bảo quản ở - 20° C. Ly tâm lại sau khi làm rã đông mỗi khi chạy mẫu. Chỉ rã đông một lần.
- Huyết tương: tương tự như trên nhưng phải ly tâm ngay sau khi lấy mẫu, không để quá 30 phút.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị thuốc thử**

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

##### **2.1.1. Dung dịch rửa:**

Hòa 15 ml Wash Buffer với nước cất để được dung dịch 300 ml.

##### **2.1.2. Chuẩn:**

- Nồng độ S1- S5 lần lượt là: 40µg/L; 10 µg/L; 2 µg/L; 0,4 µg/L; 0,1 µg/L
- Sẵn sàng để sử dụng.
- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng 100 phút
- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

#### **2.2. Các bước tiến hành**

- Hút 50  $\mu$ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- Hút 50  $\mu$ l HRP-liên hợp cho vào tiếp các giếng trộn đều
- Ủ 60 phút ở 37° C
- Rửa các giếng 3 lần với 200  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- Hút 50  $\mu$ l cơ chất A và cơ chất B vào mỗi giếng
- Ủ 15 phút ở 37° C, tránh ánh sáng
- Hút 50  $\mu$ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng
- Tiến hành đo trong vòng 10 phút.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham khảo:

Người lớn: 0,78 – 19,27  $\mu$ g/L

- Ý nghĩa lâm sàng:

+ MDA là dấu ấn của tình trạng chống oxi hóa ở những người bệnh ung thư.

+ MDA tăng trong tiền ung thư và các người bệnh ung thư so với những người bình thường khỏe mạnh.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống → lấy lại.
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng.
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút).
- Mẫu có kết quả vượt quá 40 $\mu$ g/L thì phải hòa loãng mẫu với nước cất.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

## **116. ĐỊNH LƯỢNG MPO (Myeloperoxydase)**

MPO (Myeloperoxydase) là enzyme do bạch cầu tiết ra, có vai trò trong việc tiêu diệt các vi khuẩn gây bệnh, ngoài ra cũng có vai trò trong oxy hóa lipid đặc biệt là LDL-C, do vậy nó liên quan với quá trình xơ vữa mạch máu. MPO được tích lũy trong các mảng xơ vữa mạch máu, đặc biệt các mảng xơ vữa đã mất tính ổn định và có thể bong ra, đi vào tuần hoàn và có thể gây ra những tai biến như NMCT, NMN...chính vì vậy MPO được nghiên cứu trong nhiều bệnh lý tim mạch và được coi là yếu tố tiên lượng nguy cơ tim mạch ở người bệnh xơ vữa mạch máu. Bên cạnh đó, ở người bệnh suy tim cũng thấy sự tăng nồng độ của MPO, sự thay đổi nồng độ này có liên quan đến mức độ suy tim.

### **I. NGUYÊN LÝ**

MPO được định lượng theo nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Xét nghiệm MPO là xét nghiệm miễn dịch hai bước để định lượng MPO

Ở bước một, MPO có trong mẫu bệnh phẩm kết hợp với anti MPO được phủ trên các vi hạt thuận từ theo phản ứng kết hợp kháng nguyên- kháng thể. Sau khi rửa, thêm anti-MPO có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) ở bước hai để tạo phức hợp kháng thể - kháng nguyên –kháng thể dạng sandwich. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng MPO trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm miễn dịch Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm MPO, chất chuẩn MPO, chất kiểm tra chất lượng MPO.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống có chất chống đông là EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết tương.
- Mẫu ổn định trong 7 ngày ở 2-8 °C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm MPO. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm MPO. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm MPO đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị bình thường
  - + Nam < 354.3 pmol/L
  - + Nữ < 246.6 pmol/L
- MPO máu tăng trong:
  - + Các trường hợp xơ vữa mạch máu và được coi là yếu tố tiên lượng hội chứng vành cấp.
  - + Giúp ích trong phân loại người bệnh suy tim.

### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm:
  - + Sử dụng nhầm chất chống đông: Xét nghiệm MPO yêu cầu sử dụng chất chống đông là EDTA.

+ Khắc phục cần huấn luyện cán bộ lấy mẫu sử dụng đúng ống đựng mẫu và người nhận mẫu cũng cần biết rõ mẫu nào đúng yêu cầu của xét nghiệm.

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 20 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.5g / dL

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 3000 mg/dl.

+ Protein thấp 3g/dL hay cao 12 g/dL

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm (trừ trường hợp protein máu thấp) và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).



## 117. ĐỊNH LƯỢNG MYOGLOBIN

### I. NGUYÊN LÝ

#### Phương pháp miễn dịch đo độ đục

Myoglobin trong huyết thanh phản ứng đặc hiệu với kháng thể kháng myoglobin được phủ trên bề mặt các hạt latex để tạo thành các hạt ngưng kết không tan. Sự hấp thụ ánh sáng của các hạt ngưng kết này tỷ lệ với nồng độ myoglobin trong mẫu thử.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên của phòng xét nghiệm có nhiệm vụ nhận và kiểm tra chất lượng của mẫu bệnh phẩm bằng cách đối chiếu với các tiêu chuẩn loại bỏ và thực hiện phân tích theo phương pháp đã được xác định.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700
- Máy ly tâm
- Hóa chất làm xét nghiệm Myoglobin (hãng Olympus )
- Huyết thanh kiểm tra cardiac marker mức 1
- Huyết thanh kiểm tra cardiac marker mức 2
- Huyết thanh kiểm tra cardiac marker mức 3
- Chuẩn Olympus Myoglobin Calibrator Cat.No ODR3025.
- Nước cất

#### 3. Người bệnh

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Ghi đầy đủ thông tin cần thiết: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 2. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh
- Mẫu ổn định: ổn định khoảng 1 tuần khi bảo quản tại 2 đến 8°C và 2 ngày khi bảo quản tại 15 đến 25°C.
- Mẫu nhiễm mỡ nhiều không sử dụng được.

### 3. Tiến hành kỹ thuật

- Ly tâm ống máu 5 phút với vận tốc 5000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.
- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy Beckman Coulter.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:

+ Hàng ngày: Chạy 3 mức kiểm QC tra chất lượng hàng ngày vào buổi sáng và ít nhất sau mỗi 8 tiếng. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức QC nằm trong khoảng cho phép.

+ Định kỳ: Chuẩn lại và chạy 3 mức QC sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### 1. Giá trị tham chiếu

Nồng độ myoglobin huyết thanh: Nam: 19- 92  $\mu\text{g/L}$

Nữ: 12- 76  $\mu\text{g/L}$

### 2. Ý nghĩa lâm sàng

Myoglobin tăng cao trong máu có thể gặp sau tổn thương cơ xương hoặc cơ vân: chấn thương đụng giập, tăng ure máu, đột quỵ, viêm cơ, viêm bắp, thể thao, bỏng và nhồi máu cơ tim. Các triệu chứng lâm sàng là cần thiết để xác định tăng myoglobin là do nhồi máu cơ tim hay tổn thương cơ vân. Mb tăng sau 2-4 h NMCT, trước khi có sự tăng TnI hoặc TnT, CK-MB; trở về bình thường trong vòng 24h. Trong tổn thương cơ vân, Mb tăng tương tự như sự tăng CK toàn phần. Mb là thông số hữu ích trong chẩn đoán NMCT và theo dõi điều trị huyết khối, tuy nhiên nó không đặc hiệu cho NMCT nên phải được xem xét cùng với các dấu ấn khác của tim.

Mb giảm có thể gặp khi xuất hiện kháng thể kháng Mb trong tuần hoàn như trong nhiều trường hợp người bệnh viêm đa cơ, viêm khớp dạng thấp.

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

## 118. ĐỊNH LƯỢNG MAGIE

Magie là một cation quan trọng đối với cơ thể. Magie có mặt trong thành phần của khoảng 300 enzym khác nhau có vai trò điều hoà các chức năng và nhiều quá trình chuyển hoá năng lượng. Khoảng 50 – 70% lượng magie trong cơ thể tập trung ở xương, phần còn lại phân bố ở tổ chức cơ, tổ chức mô mềm và một lượng nhỏ trong máu. Lượng magie trong máu luôn duy trì từ ở mức ổn định để đảm bảo mọi hoạt động của cơ thể diễn ra bình thường. Magie cũng góp phần quan trọng trong chức năng hoạt động của tim.

### I. NGUYÊN LÝ

Theo phương pháp đo màu, điểm cuối (end-point)

Mẫu bệnh phẩm cho thêm thuốc thử 1 (R1) (buffer/EGTA). Sau đó cho thêm thuốc thử 2 (R2) (xylidyl blue), phản ứng bắt đầu xảy ra trong dung dịch kiềm, magie tạo thành một phức hợp màu tím với xylidyl màu xanh, muối diazonium. Nồng độ magie được đo bằng máy quang kế tự động (hoặc bán tự động) thông qua việc giảm độ hấp thụ màu xanh xylidyl

### II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

Các máy phân tích hóa sinh tự động hoặc bán tự động.

##### 2.2. Hóa chất

R1 TRISA/6-aminocaproic acid buffer: 500 mmol/L, pH 11.25; EGTA: 129  $\mu$ mol/L; chất bảo quản

R2 Xylidyl blue: 0.28 mmol/L; detergent; chất bảo quản

a) TRIS = Tris(hydroxymethyl)-aminomethane.

##### 2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- ống nghiệm;
- Găng tay; dây garô;
- Bông , cồn sát trùng
- Bơm tiêm hoặc kim lấy máu

#### 3. Người bệnh

- Cần giải thích cho BN và người nhà về mục đích của XN
- Người bệnh cần ngừng thuốc có chứa magie 3 ngày trước khi lấy máu.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Có y lệnh của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy máu vào ống chống đông Lithium heparin.
- Mẫu tránh vỡ hồng cầu, không garo quá chặt, quá lâu.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

##### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

chuẩn máy bằng dung dịch chuẩn (một hoặc nhiều chuẩn =multical)

Phân tích QC: ở cả 2 level. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

##### **2.2. Phân tích mẫu**

Sau khi lấy máu, cần ly tâm để tách huyết thanh/ huyết tương và được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm.

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); lựa chọn test và vận hành theo protocol, máy sẽ tự động phân tích.

### **III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Trị số tham khảo

Huyết thanh/ huyết tương: 1.59–2.56 mg/dL (1.3–2.1 mEq/L)

2-4 ngày tuổi: 1.46–2.20 mg/dL (1.2–1.8 mEq/L)

5 tháng-6 tuổi: 1.71–2.29 mg/dL (1.4–1.9 mEq/L)

6-12 tuổi: 1.71–2.07 mg/dL (1.4–1.7 mEq/L)

2-20 tuổi: 1.59–2.20 mg/dL (1.3–1.8 mEq/L)

Nước tiểu : 12.2-292 mg/24 giờ (1.0–24.0 mEq/24 h)

#### **Nồng độ magie máu tăng**

- Dùng các dung dịch truyền có Magie: Dùng thuốc trung hoà dịch vị có chứa magie ở người bệnh suy thận.

- Trong một số bệnh: Bệnh Addison; cắt bỏ tuyến thượng thận; mất nước nặng; Nhiễm toan ceton (đái tháo đường type 1); Cường cận giáp; Suy tuyến giáp; Kahler

#### **Nồng độ magie máu giảm**

+ Giảm hấp thu qua đường tiêu hóa: Suy dinh dưỡng; Hội chứng giảm hấp thu ; Nghiện rượu; Ỉa chảy, nôn nhiều ; Suy thận

+ Mất magie qua đường thận: dùng thuốc (lợi tiểu, gentamycin cisplatin, amphotericin B); Tồn thương ống thận; Cường Aldosteron; Suy cận giáp

• Tăng quá trình tạo xương ; Một số bệnh khác: Viêm tụy mạn; Lọc máu chu kỳ nhiều năm; Xơ gan; Cường giáp; Nhiễm độc thai nghén

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| <b>Yếu tố</b>                                                                                                                                      | <b>Hậu quả</b>                                                                               | <b>Xử trí</b>                                                                                            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| - Garo quá chặt, quá lâu<br>- Mẫu vỡ hồng cầu                                                                                                      | do magie là cation chủ yếu trong tế bào, nên vỡ hồng cầu có thể ảnh hưởng làm tăng trị số Mg | Khi lấy máu garô vừa phải. Nếu dùng bơm tiêm lấy máu phải tháo kim tiêm trước khi bơm máu vào ống nghiệm |
| Đang dùng một số thuốc: Amilorid, nhóm aminoglycosid, aspirin, calcitrol, thuốc nhuận tràng, Salicylat, tacrolimus                                 | có thể ảnh hưởng làm tăng trị số Mg                                                          | Ngừng các thuốc 3 ngày trước khi lấy máu                                                                 |
| Đang dùng một số thuốc Amphetericin, azathioprin, canxi gluconat, cisplatin, cyclosporin, digoxin, insulin, neomycin theophyllin, thuốc tránh thai | có thể ảnh hưởng làm giảm trị số Mg                                                          | Ngừng các thuốc 3 ngày trước khi lấy máu                                                                 |

## 119. ĐỊNH LƯỢNG N-MID OSTEOCALCIN

Osteocalcin là một protein không thuộc loại collagen, quan trọng nhất trong cấu trúc xương, là protein gắn kết calci chuyên biệt cho xương phụ thuộc vào vitamin K. Nó bao gồm 49 acid amin và có trọng lượng phân tử khoảng 5800 dalton. Trong quá trình tổng hợp xương, osteocalcin được tạo ra bởi các nguyên bào xương. Quá trình này phụ thuộc vitamin K và được thúc đẩy bởi vitamin D3. Sau khi giải phóng từ nguyên bào xương, osteocalcin không chỉ được hấp thu vào trong nền xương mà còn đổ vào hệ tuần hoàn. Như vậy, nồng độ osteocalcin huyết thanh (huyết tương) có liên quan đến tỷ lệ luân chuyển xương ở nhiều rối loạn về chuyển hóa xương, ví dụ đặc biệt là loãng xương, mà còn trong chứng cường tuyến cận giáp nguyên phát và thứ phát hoặc bệnh Paget. Chính vì thế, Osteocalcin được xem như là một dấu ấn cho sự luân chuyển xương và được sử dụng cho mục đích này. Xét nghiệm osteocalcin có thể giúp theo dõi điều trị với các thuốc chống hủy xương (nhóm biphosphonate hoặc liệu pháp thay thế nội tiết tố, như ở các người bệnh bị loãng xương hay tăng calci máu). Có hai dạng osteocalcin dạng nguyên vẹn (acid amin 1-49) và dạng phân đoạn N-MID (acid amin 1-43) đều hiện diện trong máu. Dạng osteocalcin nguyên vẹn không bền do bị protease phân cắt giữa hai acid amin vị trí 43 và 44. Phân đoạn N-MID được tạo thành từ sự phân cắt này bền hơn đáng kể. Xét nghiệm Elecsys N-MID Osteocalcin sử dụng hai kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng trực tiếp các epitope trên phân đoạn N-MID và phân đoạn có đầu N tận cùng. Vì thế xét nghiệm này phát hiện được phân mảnh N-MID bền cũng như osteocalcin nguyên vẹn (nếu còn tồn tại).

### I. NGUYÊN LÝ

Osteocalcin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Osteocalcin có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng Osteocalcin đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng Osteocalcin đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ Osteocalcin có trong mẫu thử.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Osteocalcin, chất chuẩn Osteocalcin, chất kiểm tra chất lượng Osteocalcin.

### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin, K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 15-25°C, 3 ngày ở 2-8°C, 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Osteocalcin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Osteocalcin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Osteocalcin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- 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:

Nữ:

+ Tiền mãn kinh : 11 - 43 ng/mL

+ Mãn kinh: 15 - 46 ng/mL

+ Người bệnh loãng xương: 13 - 48 ng/mL

Nam:

+ 18 – 30: 24 – 70 ng/mL

+ 30 – 50: 14 – 42 ng/mL

+ 50 – 70: 14 – 46 ng/mL

Ở người bệnh suy thận Osteocalcin có thể tăng do hai lý do: giảm thanh thải và loạn dưỡng xương. Xét nghiệm nhằm theo dõi tác dụng của thuốc chống hủy xương.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL .

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ RF < 2200 IU/mL

+ Biotin < 50 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ Osteocalcin tới 4200 ng/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).



## 120. ĐỊNH LƯỢNG NSE(Neuron-specific enolase)

### I. NGUYÊN LÝ

NSE được chỉ định trong các trường hợp ung thư phổi tế bào nhỏ. Ngoài ra, NSE còn tăng trong các trường hợp u nguyên bào thần kinh, u ác tính tinh hoàn và một vài khối u khác. NSE thay đổi tùy thuộc vào kỹ thuật định lượng. NSE được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. NSE trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng NSE 18E5 từ chuột gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng NSE 84B10 từ chuột được đánh dấu bằng ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ NSE có trong mẫu thử.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

**2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: ba mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

**3. Người bệnh:** được giải thích trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng

**4. Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm loại bỏ tế bào ngay trong vòng 1h trước khi tiến hành kỹ thuật. Chỉ sử dụng huyết thanh. Không được vỡ hồng cầu. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C trong vòng 24giờ, ở - 20<sup>0</sup>C được 3 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: 15,7 – 17,0 ng/mL
- Tăng cao và có giá trị nhất trong ung thư phổi tế bào nhỏ. Ngoài ra còn tăng cao trong một số trường hợp u nguyên bào thần kinh, khối u ác tính ở tinh hoàn, u thần kinh đệm, u màng não, u xơ thần kinh ...

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân                                                                                          | Sai sót                                    | Xử trí                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Bệnh phẩm vỡ hồng cầu hoặc không được ly tâm ngay                                                    | Kết quả tăng giả tạo                       | Không phân tích các mẫu vỡ hồng cầu. Ly tâm mẫu tách huyết thanh ngay |
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 1231 $\mu$ mol/L, triglyceride > 22,8 mmol/L và biotin > 409 nmol/L | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm 10% | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại  |
| Nồng độ > 100000 ng/mL                                                                               | Hiệu ứng hook-effect                       | Pha loãng bệnh phẩm                                                   |
| Nồng độ NSE > dải đo (0,05 – 370 ng/mL)                                                              | Sai lệch kết quả                           | Pha loãng bệnh phẩm                                                   |

## 121. ĐỊNH LƯỢNG NT - ProBNP

*(N-terminal pro B-type natriuretic peptide)*

Pre-pro-peptid gồm 134 gốc acid amin khi tách ra thành ProBNP (108 gốc acid amin) và một đoạn peptid tín hiệu (25 gốc acid amin). Khi được giải phóng vào máu, proBNP bị thủy phân tạo thành NT-proBNP (76 gốc acid amin, không có hoạt tính sinh học) và BNP (32 gốc acid amin, có hoạt tính sinh học). Ở người, NT-proBNP và BNP có một lượng lớn trong cơ tim thất trái, cũng có một ít trong mô tim nhĩ cũng như trong cơ tim thất phải.

NT-pro BNP trong máu được sử dụng để sàng lọc, chẩn đoán và theo dõi suy tim cấp: suy tim sung huyết, suy tim mất bù cấp tính. NT-proBNP cũng thường tăng ở người bệnh rối loạn chức năng thất trái không có triệu chứng hoặc có triệu chứng và có liên quan đến động mạch vành, thiếu máu cơ tim cục bộ

### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng NT-pro BNP dựa trên nguyên lý miễn dịch kiểu Sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang (ECLIA). Tổng thời gian của phản ứng 18 phút.

- Giai đoạn ủ thứ nhất: Gồm 20  $\mu$ 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

### **2.3. Hóa chất**

- Lọ thứ nhất (M)- nắp màu trong, có Streptavidin-coated microparticles thể tích: 6.5 mL: Streptavidin-coated microparticles 0.72 mg/mL; preservative.
- Lọ thứ hai (R1)- nắp màu ghi, có Anti-NT-proBNP-Ab~biotin thể tích 9 mL: Biotinylated polyclonal anti-NT-proBNP antibody (sheep) 1.5 µg/mL;
- phosphate buffer 40 mmol/L, pH 7.4; preservative.
- Lọ thứ ba (R2) nắp màu đen, có Anti-NT-proBNP-Ab~Ru(bpy) thể tích 9 mL: Polyclonal anti-NT-proBNP antibody (sheep) labeled with ruthenium complex 1.7 µg/mL; phosphate buffer 40 mmol/L, pH 7.4; preservative.
- Procell; Clean cell
- Dung dịch chuẩn
- Quality control (QC): gồm 3 mức: level 1, 2 và 3

### **2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác**

- Ống nghiệm
- Găng tay
- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh về mục đích của xét nghiệm

Người bệnh cần phối hợp để lấy máu theo đúng yêu cầu về thời gian và số lượng

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu xét nghiệm

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Thực hiện trên mẫu máu, có thể dùng: Huyết thanh; Huyết tương: chất chống đông thích hợp là Li-heparin

Độ ổn định của mẫu: Mẫu có thể ổn định 3 ngày/nhiệt độ 20-25°C; 6 ngày/nhiệt độ 2-8°C; 12 tháng/nhiệt độ -20°C

## 2. Tiến hành kỹ thuật

### 2.1. Chuẩn bị máy phân tích

Dựng đường chuẩn theo mẫu nhà sản xuất cung cấp

Phân tích QC: ở cả 3 level. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

### 2.2. Phân tích mẫu

Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2h

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và máy sẽ tự động phân tích mẫu bệnh phẩm.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Trị số tham khảo: đơn vị pg/mL, nồng độ NT- proBNP phụ thuộc vào lứa tuổi

| Nhóm tuổi         | 18-44       | 45-54       | 55-64       | 65-74      | ≥ 75       |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|
| n                 | 1323        | 408         | 398         | 102        | 33         |
| mean              | <b>35.6</b> | <b>49.3</b> | <b>72.6</b> | <b>107</b> | <b>211</b> |
| SD                | 30.2        | 63.3        | 84.4        | 85.9       | 152        |
| Median            | 20.4        | 30.7        | 47.3        | 85.1       | 174        |
| 95th percentile   | 97.3        | 121         | 198         | 285        | 526        |
| 97.5th percentile | 115         | 172         | 263         | 349        | 738        |

Khi tăng là biểu hiện của suy tim cấp, suy tim mạn, thiếu máu cơ tim cục bộ

Điểm cắt tối ưu NT-proBNP để chẩn đoán suy tim cấp theo tuổi

| Độ tuổi    | Điểm cắt tối ưu | Độ nhạy (%) |
|------------|-----------------|-------------|
| < 50 tuổi  | < 450 pg/mL     | 97          |
| 50-75 tuổi | < 900 pg/mL     | 90          |
| >75 tuổi   | < 1800pg/mL     | 85          |

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi:

Bilirubin > 599  $\mu\text{mol/L}$  (35 mg/dL)

Hemoglobin > 0,869 mmol/L (1,4 g/dL)

Triglycerid > 45 mmol/L (4000 mg/dL)

Biotin > 123 mmol/L (30 ng/mL)

Yếu tố dạng thấp > 1500 IU/mL

- Xử trí: Khi lấy mẫu và chuẩn bị mẫu tránh vỡ hồng cầu, khi ly tâm thấy mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại và lấy lại mẫu máu.

Người bệnh đang dùng thuốc bitoin cần dùng thuốc tối thiểu 8 giờ trước khi lấy mẫu.

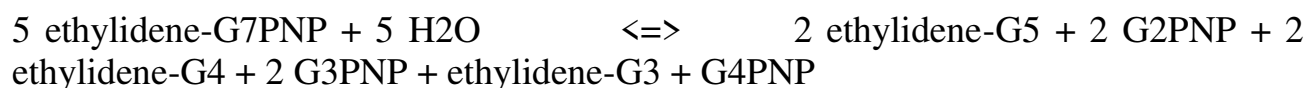
## 122. ĐO HOẠT ĐỘ P- AMYLASE (Pancreatic $\alpha$ - Amylase)

### I. NGUYÊN LÝ

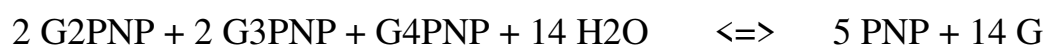
P-Amylase là enzyme thủy phân tinh bột có nguồn gốc tuyến tụy. Xét nghiệm p-amylase thường được chỉ định trong bệnh lý tuyến tụy.

Hoạt độ của enzym Pancreatic  $\alpha$ -Amylase (Amylase tụy) trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym.

#### *Pancreatic $\alpha$ -Amylase*



#### *$\alpha$ -glucosidase*



Trong giai đoạn đầu  $\alpha$  Amylase nước bọt bị ức chế, chỉ có  $\alpha$  Amylase tụy phát huy tác dụng. Độ đậm màu sắc của PNP hình thành tỷ lệ thuận với hoạt độ  $\alpha$  amylase tụy huyết thanh và có thể đo được ở bước sóng 415 nm

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm P-Amylase, chất chuẩn P-Amylase, chất kiểm tra chất lượng P-Amylase.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na hay NH<sub>4</sub>-heparin hoặc EDTA (nếu dùng EDTA, kết quả thấp hơn 5-

10% so với huyết thanh). Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 1 tháng ở 2–8°C, 7 ngày ở 20°C đến 25°C .

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm P- Amylase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm P- Amylase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm P-Amylase đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 13 - 53 U/L
- P-Amylase máu tăng trong: Bệnh tụy (viêm tụy cấp và mạn).

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026  $\mu$ mol/L.
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dL .
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).



## **123. ĐỊNH LƯỢNG PAPP-A**

### **(Pregnancy- associated plasma protein A)**

PAPP-A là một đại phân tử glycoprotein có nguồn gốc từ nhau thai, được sản xuất bởi lá nuôi phôi với nồng độ cao trong suốt thai kỳ. Nồng độ PAPP-A có trong huyết thanh mẹ tăng dần theo tuổi thai, rõ rệt nhất ở giai đoạn cuối thai kỳ.

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Nồng độ PAPP-A được xác định dựa trên phép phân tích miễn dịch hóa phát quang đánh dấu enzym (Enzyme-labeled chemiluminescent immunoassay).

Sau 30 phút ủ, phức hợp Sandwich được tạo thành, trong đó mẫu thử của người bệnh đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa kháng thể kháng PAPP-A gắn với hạt bead và kháng thể kháng PAPP-A liên kết với enzyme ALP. ALP thủy phân cơ chất phát quang tín hiệu. Tín hiệu thu được tỷ lệ thuận với lượng PAPP-A trong mẫu thử.

#### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** Bác sỹ, cử nhân được đào tạo sử dụng máy Immulite 2000

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

*2.1.1. Phương tiện:* Hệ thống máy phân tích Immulite 2000 của hãng SIEMENS

*2.1.2. Hóa chất:*

- Pha rắn: Hộp chứa hạt bead PAPP-A

+ Chứa 200 hạt bead được phủ kháng thể đơn dòng kháng PAPP-A từ chuột

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Pha lỏng: Hộp chứa thuốc thử PAPP-A

+ Chứa 11,5 mL enzym ALP (từ ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng kháng PAPP-A từ chuột, trong dung dịch đệm.

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C đến ngày hết hạn

- Các dung dịch hiệu chuẩn (Adjustor) PAPP-A:

+ 2 lọ chứa PAPP-A (mức thấp và mức cao) trong huyết thanh đông khô không có nguồn gốc từ người. Hoàn nguyên chất đông khô trong mỗi lọ với 2 mL nước cất hoặc nước đã khử ion, đảo trộn nhẹ nhàng để chất đông khô tan hoàn toàn.

+ Bảo quản ổn định ở 2 – 8°C trong 30 ngày sau khi pha, 3 tháng ở -20°C.

- Các thành phần không được cung cấp kèm theo Kit:

+ Dung dịch pha loãng mẫu: Multi-Diluent 2

- + Cơ chất hóa phát quang (Chemiluminescent Substrate): là một ester phosphate của adamantyl dioxetane, bị thủy phân dưới xúc tác của enzym ALP tạo thành một dạng trung gian không ổn định. Chất trung gian này nhanh chóng bị phá vỡ liên kết để chuyển thành dạng ổn định, đồng thời phát xạ ánh sáng.
- + Dung dịch rửa các kim hút (Probe wash)
- + Dung dịch vệ sinh các kim hút (Probe Cleaning Kit)
- + Tube phản ứng, Tube mẫu
- + Dung dịch kiểm tra chất lượng (Control): 2 mức

\* Lưu ý:

- + Chỉ sử dụng để chẩn đoán trong phòng thí nghiệm
- + Thuốc thử được loại bỏ theo quy định
- + Chất bảo quản Natri azide (dưới 0,1 g/dL). Khi xử lý phải dùng một lượng nước lớn để rửa, tránh sự ăn mòn đường ống.
- + Cơ chất hóa phát quang: tránh nhiễm bẩn, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời.
- + Nước: sử dụng nước cất hoặc nước đã khử ion.

**3. Người bệnh:** Thai phụ tham gia sàng lọc trước sinh ở quý I của thai kỳ (tuần thai từ 11 đến 14 tuần).

**4. Phiếu xét nghiệm:** theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Bệnh phẩm

- Mẫu phân tích: Huyết thanh hoặc huyết tương có chất chống đông heparin. Không sử dụng huyết tương có chất chống đông EDTA.
- Xử lý mẫu:
  - + Đảm bảo cục máu đông co lại hoàn toàn trước khi ly tâm mẫu để tách huyết thanh, tránh nhiễu kết quả do sự có mặt của fibrin.
  - + Khi sử dụng máu bị vỡ hồng cầu, việc đánh giá kết quả cần thận trọng.
  - + Sử dụng máy siêu ly tâm để làm trong những mẫu có Lipid cao.
- Thể tích mẫu cần thiết: 10 µl huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bảo quản: 24 giờ ở 2 – 8°C, 2 tháng ở -20°C.
- Pha loãng mẫu: pha loãng mẫu trước khi phân tích nếu nghi ngờ mẫu có nồng độ PAPP-A cao hơn ngưỡng đo của máy

## 2. Tiến hành kỹ thuật

### 2.1. Quy trình phân tích

- Để có kết quả tối ưu, cần tuân thủ các bước của quy trình bảo trì theo sách hướng dẫn IMMULITE 2000. Bao gồm: chuẩn bị, cài đặt, hòa loãng, hiệu chỉnh đường chuẩn (Adjustment), chạy kiểm tra chất lượng và phân tích.
- Chu kỳ hiệu chỉnh lại đường chuẩn (Adjustment) được khuyến cáo là 4 tuần, hoặc khi chạy kiểm tra chất lượng không đạt, hoặc khi thay Lot hóa chất mới.
- Chạy kiểm tra chất lượng ít nhất là 2 mức (thấp và cao)

### 2.2. Chu kỳ ủ: 1 x 30 phút

### 2.3. Thời gian có kết quả đầu tiên: 35 phút

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### 1. Hiện thị kết quả

- Đơn vị đo: mIU/mL
- Giới hạn đo: 0,025- 10 mIU/mL
- Độ nhạy: 0,025 mIU/mL

### 2. Giá trị tham khảo

| Tuần thai        | Trung vị PAPP-A (mIU/mL) | Tuần thai        | Trung vị PAPP-A (mIU/mL) | Tuần thai        | Trung vị PAPP-A (mIU/mL) |
|------------------|--------------------------|------------------|--------------------------|------------------|--------------------------|
| 10 <sup>+4</sup> | 1,33                     | 11 <sup>+5</sup> | 2,35                     | 12 <sup>+6</sup> | 3,73                     |
| 10 <sup>+5</sup> | 1,44                     | 11 <sup>+6</sup> | 2,50                     | 13 <sup>+0</sup> | 3,92                     |
| 10 <sup>+6</sup> | 1,55                     | 12 <sup>+0</sup> | 2,66                     | 13 <sup>+1</sup> | 4,13                     |
| 11 <sup>+0</sup> | 1,67                     | 12 <sup>+1</sup> | 2,82                     | 13 <sup>+2</sup> | 4,34                     |
| 11 <sup>+1</sup> | 1,79                     | 12 <sup>+2</sup> | 2,99                     | 13 <sup>+3</sup> | 4,55                     |
| 11 <sup>+2</sup> | 1,92                     | 12 <sup>+3</sup> | 3,17                     | 13 <sup>+4</sup> | 4,77                     |
| 11 <sup>+3</sup> | 2,06                     | 12 <sup>+4</sup> | 3,35                     | 13 <sup>+5</sup> | 5,00                     |
| 11 <sup>+4</sup> | 2,20                     | 12 <sup>+5</sup> | 3,53                     | 13 <sup>+6</sup> | 5,23                     |

Mỗi Phòng thí nghiệm nên thiết lập một giá trị tham khảo riêng.

## 3. Đánh giá

- Một số nghiên cứu chỉ ra rằng sự giảm nồng độ PAPP-A trong thai kỳ có liên quan đến những bất thường về nhiễm sắc thể của thai nhi.

- Ở quý I của thai kỳ, sự kết hợp giữa tuổi mẹ, nồng độ  $\text{f}\beta\text{-HCG}$ , PAPP-A trong huyết thanh mẹ và độ mờ da gáy của thai nhi làm tăng hiệu quả của sàng lọc trước sinh so với sàng lọc ở quý II.

## **V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Hạn chế của phương pháp**

- Các kháng thể không đồng nhất trong huyết thanh người có thể phản ứng với các Ig trong thuốc thử gây nhiễu kết quả phân tích
- Những người bệnh thường xuyên tiếp xúc với động vật hoặc các sản phẩm từ huyết thanh động vật cũng có thể gây nhiễu kết quả phân tích
- Sử dụng kết quả phân tích với mục đích chẩn đoán, cần kết hợp với các triệu chứng lâm sàng và tiền sử bệnh của người bệnh.

### **2. Yếu tố gây nhiễu**

- Hiệu ứng High-dose Hook:  $\geq 115 \text{ mIU/mL}$
- Các mẫu huyết thanh có nồng độ T-Bilirubin  $> 200 \text{ mg/L}$  ( $342 \text{ }\mu\text{mol/L}$ ), hoặc nồng độ Hb  $> 157 \text{ mg/dL}$ , hoặc nồng độ TG  $> 3000 \text{ mg/dL}$  ( $33,9 \text{ mmol/L}$ ) có thể ảnh hưởng đến kết quả. Do đó, không sử dụng các mẫu này để phân tích.

## 124. ĐỊNH LƯỢNG PEPSINOGEN I

### I. NGUYÊN LÝ

Pepsinogen là chất tiền thân không hoạt tính của pepsin (enzym phân giải protein có trong dịch vị), và được phân loại miễn dịch học ra thành Pepsinogen I (PG-I) và Pepsinogen II (PG-II). PG-I được sản xuất ở tuyến đáy vị.

Định lượng Pepsinogen I theo nguyên lý Miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay). Ở bước một: mẫu, dung dịch pha loãng đặc hiệu, và vi hạt thuận từ phủ kháng thể kháng PG- I người được kết hợp lại. PG-I có trong mẫu gắn với các vi hạt phủ anti-human PG-I. Sau khi rửa, ở bước hai: chất kết hợp kháng thể kháng PG -I ở người có đánh dấu acridinium được cho vào. Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng PG-I trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện. Nồng độ của PG-I trong mẫu được xác định bằng cách sử dụng đường cong chuẩn ARCHITECT Pepsinogen I đã thiết lập trước đó.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy Architect

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện:

- Máy Architect ir1000(hoặc hệ máy miễn dịch khác có khả năng định lượng Pepsinogen I)
- Ống nghiệm (EDTA, sodium citrate), ống nghiệm không có chất chống đông, dây garô, bơm tiêm 5ml, cồn sát trùng.

##### 2.2. Hóa chất: Bộ thuốc thử 100 / 500 Test ARCHITECT Pepsinogen I

- Các vi hạt: 1 chai (6,6 mL chai 100 test / 27,0 mL chai 500 test) kháng thể kháng PG-I ở người (từ chuột, đơn dòng) phủ trên Vi hạt trong dung dịch đệm MOPSO với chất ổn định protein (bò). Chất bảo quản: Tác nhân kháng vi sinh vật
- Chất kết hợp: 1 chai (5,9 mL chai 100 test / 26,3 mL chai 500 test ) kháng thể kháng PG-I ở người (từ chuột, đơn dòng) phủ trên Vi hạt trong dung dịch đệm MES với chất ổn định protein (bò). Chất bảo quản: ProClin.

- Dung dịch hòa loãng đặt hiệt: 1 chai (10 mL trên chai 100 test / 50,9 mL trên chai 500 test) dung dịch pha loãng xét nghiệm đặc hiệu Pepsinogen I chứa dung dịch đệm MOPSO. Chất bảo quản: Tác nhân kháng vi sinh vật

**3. Người bệnh:** những người bệnh nghi ngờ teo niêm mạc tuyến đáy vị dạ dày

**4. Phiếu xét nghiệm:** Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Bệnh phẩm**

##### **1.1. Loại mẫu**

Huyết thanh, Huyết tương (potassium EDTA, sodium citrate). Không dùng Các chất chống đông lỏng có thể gây pha loãng dẫn đến làm nồng độ mẫu người bệnh thấp.

##### **1.2. Điều kiện mẫu**

- Không sử dụng các mẫu sau: bị bất hoạt do nhiệt, bị tán huyết, thấy nhiễm khuẩn bằng mắt thường, mẫu lấy từ tử thi hay các dịch cơ thể khác.

- Để có kết quả xác thực: mẫu huyết thanh và huyết tương không nên có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả Đối với những mẫu mới đã đông khuyến cáo chuyển mẫu sang ống ly tâm và ly tâm ở  $\geq 10.000$  RCF (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cup đựng mẫu để chạy xét nghiệm. Các mẫu xét nghiệm đã ly tâm có màng lipid ở trên cùng phải được hút vào cup chứa mẫu. Cần phải cẩn thận chỉ chuyển phần dịch trong không được lẫn lipid.

- Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.

##### **1.3. Bảo quản:**

Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 24 giờ, tách huyết tương hay huyết thanh ra khỏi cục máu đông bỏ vào cup có nắp đậy. Mẫu có thể được bảo quản 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C trước khi XN. Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 7 ngày, bảo quản đông lạnh ở  $\leq -10^{\circ}\text{C}$ .

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT Pepsinogen I vào máy Architect.

- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.

- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy lại.

- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

#### *Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng*

- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn (Calibrator) và mẫu kiểm tra chất lượng (Control) Pepsinogen I ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.

Yêu cầu chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng Pepsinogen I phải giữ theo chiều thẳng đứng và nhỏ 5 giọt mẫu chuẩn hay 4 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng vào từng cup đựng mẫu tương ứng.

- Nạp mẫu và nhấn nút RUN.

#### *Quy trình pha loãng mẫu*

- Mẫu với giá trị Pepsinogen I  $>200$  ng/mL có thể pha loãng theo quy trình pha loãng thủ công với tỷ lệ 1:5 (100  $\mu$ L mẫu bệnh phẩm + 400  $\mu$ L Pepsinogen I Cal 1). Người vận hành phải nhập hệ số pha loãng vào màn hình đặt lệnh mẫu kiểm tra chất lượng hay bệnh phẩm. Tất cả xét nghiệm chọn để đặt lệnh sẽ được pha loãng. Máy sẽ sử dụng hệ số pha loãng này để tự động tính nồng độ mẫu trước khi pha loãng và báo cáo kết quả.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Pepsinogen là chất tiền thân bất hoạt của pepsin là enzym phân giải protein có trong dịch vị, và được phân loại miễn dịch học ra thành Pepsinogen I (PG-I) và Pepsinogen II (PG-II). PG-I được sản xuất ở tuyến đáy vị, PG-II được sản xuất ở tuyến đáy vị, tuyến tâm vị, tuyến môn vị và tuyến Brunner.

**1. Bình thường:** nồng độ PG- I  $< 70$  ng/mL

**2. Giới hạn đo:** từ 0 -200 ng/mL.

#### **3. Bệnh lý**

Trong quá trình teo niêm mạc tuyến đáy vị, tế bào chính của dạ dày sản xuất PG –I giảm đi nhiều và số tuyến môn vị tăng lên. Vì vậy, tỉ lệ PG- I/PG -II (I / II) được phát hiện khá thấp. Do đó, tỉ lệ I/II hữu ích trong việc xác định teo niêm mạc tuyến đáy vị và tầm soát teo niêm mạc tuyến đáy vị sử dụng kết hợp phân tích tỉ lệ PG I & I / II. Trong trường hợp đặc biệt teo màng lót dạ dày, với bệnh teo niêm mạc tuyến đáy vị thì có liên quan đến ung thư dạ dày. Vì vậy, xét nghiệm miễn dịch PG-I và PG-II được dùng để tầm soát bệnh dạ dày. Tỉ lệ PG-I/II  $< 3$  được xem như là ngưỡng phát hiện trong bệnh teo niêm mạc tuyến đáy vị với tỷ lệ cao nhất.

### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

#### *Những mẫu máu sau đây có thể gây ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm*

- Một số mẫu, đặc biệt là mẫu lấy từ người bệnh dùng thuốc chống đông hay tan huyết khối có thể làm tăng thời gian hình thành cục máu đông. Nếu mẫu được ly tâm

trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả.

- Mẫu máu từ người bệnh có điều trị heparin có thể bị đông máu từng phần và sự xuất hiện của fibrin có thể dẫn đến sai số. Để tránh trường hợp này, nên lấy máu trước khi dùng liệu pháp heparin.



## 125. ĐỊNH LƯỢNG PEPSINOGEN II

### I. NGUYÊN LÝ

Pepsinogen là chất tiền thân bất hoạt của pepsin là enzym phân giải protein có trong dịch vị, và được phân loại miễn dịch học ra thành Pepsinogen I (PG-I) và Pepsinogen II (PG-II). PG-II được sản xuất ở tuyến đáy vị, tuyến tâm vị, tuyến môn vị và tuyến Brunner.

Pepsinogen II là xét nghiệm miễn dịch hai bước để xác định sự hiện diện của PG-II trong huyết thanh và huyết tương người sử dụng phép phân tích Miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm linh hoạt. Ở bước một: mẫu, dung dịch pha loãng đặc hiệu, và vi hạt thuận từ phủ kháng thể kháng PG-II người được kết hợp lại. PG-II có trong mẫu gắn với các vi hạt phủ kháng thể kháng PG-II người. Sau khi rửa, ở bước hai: chất kết hợp kháng thể kháng PG- II ở người có đánh dấu acridinium được cho vào. Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng PG- II trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện. Nồng độ của PG-II trong mẫu được xác định bằng cách sử dụng đường cong chuẩn ARCHITECT Pepsinogen II đã thiết lập trước đó.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy Architect

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện:

- Máy Architect ir1000 (hoặc hệ máy miễn dịch khác có khả năng định lượng Pepsinogen I).
- Ống nghiệm (EDTA, sodium citrate), ống nghiệm không có chất chống đông, dây garô, bơm tiêm 5ml, cồn sát trùng.
- Máy siêu ly tâm

##### 2.2. Hóa chất: Bộ thuốc thử 100 / 500 Test ARCHITECT Pepsinogen II

- Các vi hạt: 1 chai (6,6 mL chai 100 test / 27,0 mL chai 500 test) kháng thể kháng PG-II ở người (từ chuột, đơn dòng) phủ trên Vi hạt trong dung dịch đệm MOPSO với chất ổn định protein (bò). Chất bảo quản: Tác nhân kháng vi sinh vật

- Chất kết hợp: 1 chai (5,9 mL chai 100 test / 26,3 mL chai 500 test) kháng thể kháng PG-II ở người (từ chuột, đơn dòng) phủ trên Vi hạt trong dung dịch đệm MOPSO với chất ổn định protein (bò). Chất bảo quản: ProClin.

- Dung dịch hòa loãng đặt hiệu: 1 chai (10 mL trên chai 100 test / 50,9 mL trên chai 500 test) dung dịch pha loãng xét nghiệm đặc hiệu Pepsinogen II chứa dung dịch đệm MES. Chất bảo quản: ProClin.

### **3. Người bệnh**

Những người bệnh nghi ngờ teo niêm mạc tuyến đáy vị dạ dày

**4. Phiếu xét nghiệm:** Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Bệnh phẩm**

#### **2.1. Loại mẫu:**

- Huyết thanh người, Huyết tương (potassium EDTA, sodium citrate). Không dùng Các chất chống đông lỏng có thể gây pha loãng dẫn đến làm nồng độ mẫu người bệnh thấp.

#### **2.2. Điều kiện mẫu:**

- Không sử dụng các mẫu sau: bị bất hoạt do nhiệt, bị tán huyết, thấy nhiễm khuẩn bằng mắt thường, mẫu lấy từ tử thi hay các dịch cơ thể khác.

- Để có kết quả xác thực: mẫu huyết thanh và huyết tương không nên có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả. Đối với những mẫu mới đã đông nên chuyển mẫu sang ống ly tâm và ly tâm ở  $\geq 10.000$  RCF (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cup đựng mẫu để chạy xét nghiệm. Các mẫu xét nghiệm đã ly tâm có màng lipid ở trên cùng phải được hút vào cup chứa mẫu. Cần phải cẩn thận chỉ chuyển phần dịch trong không được lẫn lipid.

- Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.

#### **2.3. Bảo quản:**

Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 24 giờ, tách huyết tương hay huyết thanh ra khỏi cục máu đông bỏ vào cup có nắp đậy. Mẫu có thể được bảo quản 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C trước khi XN. Nếu xét nghiệm được thực hiện sau 7 ngày, bảo quản đông lạnh ở  $\leq -10^{\circ}\text{C}$ .

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT Pepsinogen II vào máy Architect.
- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.
- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy lại.
- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.
- Chuẩn bị Mẫu chuẩn và Mẫu kiểm tra chất lượng
- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng Pepsinogen II ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.
- Yêu cầu chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng Pepsinogen II phải giữ theo chiều thẳng đứng và nhỏ 5 giọt mẫu chuẩn hay 4 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng vào từng cup đựng mẫu tương ứng.
- Nạp mẫu và nhấn nút RUN.

#### *Quy trình pha loãng mẫu*

- Mẫu với giá trị Pepsinogen II > 100 ng/mL có thể pha loãng theo Quy trình pha loãng thủ công với tỷ lệ 1:5 (100  $\mu$ L mẫu bệnh phẩm + 400  $\mu$ L Pepsinogen II Cal 1). Người vận hành phải nhập hệ số pha loãng vào màn hình đặt lệnh mẫu kiểm tra chất lượng hay bệnh phẩm. Tất cả xét nghiệm chọn để đặt lệnh sẽ được pha loãng. Máy sẽ sử dụng hệ số pha loãng này để tự động tính nồng độ mẫu trước khi pha loãng và báo cáo kết quả.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Pepsinogen là chất tiền thân bất hoạt của pepsin là enzym phân giải protein có trong dịch vị, và được phân loại miễn dịch học ra thành Pepsinogen I (PG-I) và Pepsinogen II (PG-II). PG-I được sản xuất ở tuyến đáy vị, PG-II được sản xuất ở tuyến đáy vị, tuyến tâm vị, tuyến môn vị và tuyến Brunner.

**1. Giá trị tham khảo:** Mỗi phòng xét nghiệm thiết lập giá trị tham khảo riêng.

**2. Giới hạn đo:** PG II từ 0 -100 ng/mL.

**3. Bệnh lý:** Trong quá trình teo niêm mạc tuyến đáy vị, tế bào chính của dạ dày sản xuất PG-I giảm đi nhiều và số tuyến môn vị tăng lên. Vì vậy, tỉ lệ PG-I/PG-II (I / II) được phát hiện khá thấp. Do đó, tỉ lệ I/II hữu ích trong việc xác định teo niêm mạc tuyến đáy vị và tầm soát teo niêm mạc tuyến đáy vị sử dụng kết hợp phân tích PG-I và tỉ lệ I / II. Trong trường hợp đặc biệt teo màng lót dạ dày, với bệnh teo niêm mạc tuyến đáy vị thì có liên quan đến ung thư dạ dày. Vì vậy, xét nghiệm miễn dịch PG-I và PG-II được dùng để tầm soát bệnh dạ dày. Tỉ lệ PG-I/II < 3 xem như ngưỡng phát hiện trong bệnh teo niêm mạc tuyến đáy vị với tỷ lệ cao nhất.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

*Những mẫu máu sau đây có thể gây ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm*

- Một số mẫu, đặc biệt là mẫu lấy từ người bệnh dùng thuốc chống đông hay tan huyết khối có thể làm tăng thời gian hình thành cục máu đông. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả.
- Mẫu máu từ người bệnh có điều trị heparin có thể bị đông máu từng phần và sự xuất hiện của fibrin có thể dẫn đến sai số. Để tránh trường hợp này, nên lấy máu trước khi dùng liệu pháp heparin.

## 126. ĐỊNH LƯỢNG PHENOBARBITAL

### I. NGUYÊN LÝ

Phenobarbital là thuốc chống co giật thuộc nhóm barbiturat.

Phenobarbital được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Phenobarbital là xét nghiệm một bước để định lượng phenobarbital trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

Mẫu, anti-phenobarbital phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp phenobarbital có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng. Anti-phenobarbital phủ trên vi hạt thuận từ gắn với phenobarbital có trong mẫu và chất kết hợp phenobarbital có đánh dấu acridinium.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng phenobarbital trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Phenobarbital, chất chuẩn Phenobarbital, chất kiểm tra chất lượng Phenobarbital.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Sodium EDTA (dùng cho ống nhựa). Nếu lấy máu bằng ống thủy tinh, có thể dùng các chất chống đông Li, Na-Heparin và Na,K-EDTA và Potassium Oxalat. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 15 - 30°C, 8 ngày ở 2-8°C, bảo quản 6 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Phenobarbital. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Phenobarbital. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Phenobarbital đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Kết quả được xác định bằng các phương pháp khác nhau sẽ có nồng độ khác nhau. Do vậy không nên dùng các phương pháp khác nhau khi xét nghiệm cho 1 người bệnh.
- Liều điều trị thường có nồng độ ở mức 15 – 40 µg/mL.
- Nồng độ Phenobarbital cao, gây ngộ độc thần kinh trung ương. Người bệnh mắc bệnh thận dễ bị ngộ độc Phenobarbital hơn.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 15 mg/dL .
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2500 mg/dl.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 127. ĐỊNH LƯỢNG PHENYTOIN

### I. NGUYÊN LÝ

Phenytoin thuộc nhóm thuốc chống động kinh.

Phenytoin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Phenytoin là xét nghiệm một bước để định lượng phenytoin trong huyết thanh hoặc huyết tương.

Mẫu, anti-phenytoin phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp phenytoin có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng. Antiphenytoin phủ trên vi hạt thuận từ gắn với phenytoin có trong mẫu và chất kết hợp phenytoin có đánh dấu acridinium.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng phenytoin trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT *i* System phát hiện.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Phenytoin, chất chuẩn Phenytoin, chất kiểm tra chất lượng Phenytoin.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Sodium EDTA (dùng cho ống nhựa). Nếu lấy máu bằng ống thủy tinh, có thể dùng các chất chống đông Li, Na-Heparin và Na, K-EDTA và Potassium Oxalat, Sodium Citrat. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 15 - 25°C, 8 ngày ở 2-8°C, bảo quản 5 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Phenytoin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Phenytoin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Phenytoin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Liều điều trị thường có nồng độ ở mức 10 – 20 µg/mL.
- Nồng độ Phenytoin >20 µg/mL, gây ngộ độc thần kinh trung ương. Người bệnh mắc bệnh thận dễ bị ngộ độc Phenytoin hơn.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 15 mg/dL .
  - + Tán huyết: Hemoglobin <500 mg/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2500 mg/dl.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).



## 128. ĐỊNH LƯỢNG PHOSPHO

### I. NGUYÊN LÝ

Khoảng 88% phốt pho trong cơ thể được phân bố ở trong xương dưới dạng calcium phosphate, phần còn lại tham gia vào quá trình chuyển hóa carbohydrate trung gian và là thành phần của một số chất quan trọng như phospholipid, axit nucleic và ATP... Phốt pho trong máu dưới dạng phosphate vô cơ axit phosphoric. Số lượng nhỏ của phốt pho hữu cơ ngoại bào được tìm thấy duy nhất dưới dạng phospholipid.

Định lượng Phospho theo phương pháp đo điểm cuối với ống trắng thuốc thử. Phosphate trong mẫu bệnh phẩm tác dụng với thuốc thử tạo thành phức hợp phosphomolybdate amoni công thức  $(\text{NH}_4)_3[\text{PO}_4(\text{MoO}_3)_{12}]$ . Phức hợp màu có thể được xác định mật độ quang ở bước sóng vùng tử ngoại 340 nm, dựa trên mật độ quang của dung dịch chuẩn sẽ tính được nồng độ của phospho.

### II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Trang thiết bị

- Các máy phân tích Hóa sinh bán tự động
- Các máy Hóa sinh tự động: Hitachi 904, 911, 912, 917, cobas 6000, AU 400, 480, 640, 680, 2700, 5800 và một số máy khác.
- Máy ly tâm
- Ống nghiệm
- Pipet các loại
- Đầu côn xanh, vàng
- Giá đựng ống nghiệm

2.2. **Thuốc thử:** Tùy theo trang thiết bị hiện có, có hóa chất thích hợp

- Thuốc thử 1: Sulfuric acid: 0.36 mol/L; detergent
- Thuốc thử 2: Ammonium molybdate: 3.5 mmol/L; sulfuric acid: 0.36 mol/L; sodium chloride: 150 mmol/L
- Dung dịch chuẩn
- Dung dịch QC (quality control) ở 2 mức: level 1 và level 2

##### 2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay, dây garô
- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh mục đích của xét nghiệm này

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Cần có chỉ định của bác sỹ lâm sàng ghi trên phiếu xét nghiệm

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Mẫu bệnh phẩm: phân tích trên mẫu máu, nước tiểu

- Máu: huyết thanh, hoặc huyết tương (Lithium heparin, EDTA)
- Nước tiểu: lấy mẫu nước tiểu tốt nhất nên lấy mẫu nước tiểu 24giờ. Mẫu nước tiểu nếu có nhiều cặn phải ly tâm trước khi phân tích.

Tính ổn định của mẫu:

Huyết thanh/huyết tương 24giờ/ nhiệt độ 15 - 25<sup>0</sup>C

4 ngày/ nhiệt độ 2 – 8<sup>0</sup>C

1 năm/ nhiệt độ (-15) đến (-25<sup>0</sup>C)

Máu huyết thanh, huyết tương chỉ được đông lạnh 1 lần

Nước tiểu: 8giờ/ nhiệt độ 15 - 25<sup>0</sup>C. Mẫu nước tiểu 24giờ trong quá trình thu thập mẫu nên bảo quản mẫu ở chỗ thoáng, mát.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Chuẩn bị máy phân tích**

chuẩn máy bằng dung dịch chuẩn (một hoặc nhiều chuẩn =multical)

Phân tích QC: ở cả 2 level. Khi QC đạt tiến hành phân tích mẫu

#### **2.2. Phân tích mẫu**

Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm

Đánh số (hoặc ID của người bệnh); lựa chọn test và máy sẽ tự động phân tích mẫu bệnh phẩm.

## **III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số tham khảo:

Huyết thanh/ huyết tương: 0.87–1.45 mmol/L (2.7–4.5 mg/dL)

Mẫu nước tiểu buổi sáng : 12.9–43.9 mmol/L (40–136 mg/dL)

Mẫu nước tiểu 24h: 12.9–42 mmol/24 h (400–1300 mg/24 h)

- Hệ số chuyển đổi mg/dL x 0.323 = mmol/L

mmol/L x 3.10 = mg/dL

**+ Phospho máu tăng trong:** Suy cận giáp trạng; Ưu năng tuyến tiền yên; Thừa Vitamin D khi điều trị còi xương; Suy thận; Nhiễm độc ceton trong ĐTĐ; Ung thư xương tiên triền.

**+ Phospho máu giảm trong:** Cường cận giáp; Thiếu Vitamin D; Hội chứng Fanconi; Thiếu năng tuyến yên; Xơ gan mất bù nặng.

#### IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm khi: Bilirubin liên hợp > 599  $\mu$ mol/L (35 mg/dL); Hemoglobin >186  $\mu$ mol/L (300mg/dL);

- Xử trí :

Mẫu máu: tránh vỡ hồng cầu, nếu huyết tán nhiều nên lấy lại mẫu khác.

Mẫu nước tiểu 24 giờ khi thu thập mẫu cần bảo quản ở chỗ mát. Nếu có nhiều vẩn, cần nên ly tâm trước khi phân tích.

## 129. ĐỊNH LƯỢNG PRE-ALBUMIN

### I. NGUYÊN LÝ

Prealbumin (tên khác là transthyretin) là một protein giàu tryptophan. Thông số này có thể giúp đánh giá mức độ suy dinh dưỡng ở các người bệnh nặng hoặc mắc các bệnh mạn tính và cũng có thể dự báo khả năng hồi phục về tình trạng dinh dưỡng của người bệnh.

Định lượng dựa trên nguyên lý miễn dịch kết hợp kháng nguyên- kháng thể, Phương pháp đo độ đục miễn dịch.

Mẫu bệnh phẩm được cho thêm dung dịch đệm từ thuốc thử 1. Sau đó cho thêm thuốc thử 2 (có kháng thể kháng prealbumin) phản ứng sẽ xảy ra và xuất hiện ngưng kết là sự kết hợp của kháng thể kháng prealbumin và kháng nguyên (chất cần phân tích) có trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** 01 cán bộ đại học chuyên ngành Hóa sinh và 01 kỹ thuật viên

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Các máy hóa sinh có thể phân tích được: cobas 6000, cobas 800, AU 400, 640, 2700, 5800 và một số máy khác.
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm.
- Pipet các loại, ống sample cup.
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng.
- Giá đựng ống nghiệm.

##### 2.2. Hóa chất

- Thuốc thử 1 (R1) Phosphate buffer: 12.7 mmol/L, pH 7.2; NaCl: 0.13 mol/L; PEG: 60 g/L; chất bảo quản.
- Thuốc thử 2 (R2) Anti-human prealbumin antibody (rabbit): > 0.55 g/L; NaCl: 0.10 mol/L; chất bảo quản.

##### 2.3. Các dụng cụ tiêu hao khác

- Ống nghiệm
- Găng tay, dây garo

- Bông , cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

### 3. Người bệnh

Cần giải thích mục đích của xét nghiệm để người bệnh và người nhà bệnh BN hiểu, từ đó có thể hợp tác trong quá trình lấy máu.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Có phiếu xét nghiệm ghi rõ yêu cầu xét nghiệm.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Thực hiện trên mẫu máu: Dùng huyết thanh (không dùng chất chống đông)
- Tính ổn định của mẫu: Mẫu ổn định 3 ngày/ nhiệt độ 2-8°C; 6 tháng/ nhiệt độ (-15) - (-25°C)

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### 2.1. Chuẩn bị máy phân tích

- Dựng đường chuẩn: dựa trên 6 điểm với các nồng độ khác nhau
- Phân tích QC: ở cả 2 level. Khi QC đạt mới tiến hành phân tích mẫu

#### 2.2. Phân tích mẫu

- Mẫu bệnh phẩm nên được tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ
- Mẫu sau khi ly tâm được chuyển vào khay đựng bệnh phẩm
- Đánh số (hoặc ID của người bệnh); chọn test và vận hành theo protocol máy sẽ tự động phân tích.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### 1. Trị số tham khảo

3,64 -7,28  $\mu\text{mol/L}$  (20- 40 mg/dL; 0,2 – 0,4 g/L)

*Hệ số chuyển đổi:*

$$\text{a. } \text{g/L} \times 18.2 = \mu\text{mol/L}$$

$$\text{c. } \text{mg/dL} \times 0.01 = \text{g/L}$$

$$\text{b. } \text{mg/dL} \times 0.182 = \mu\text{mol/L}$$

$$\text{g/L} \times 100 = \text{mg/dL}$$

### 2. Trị số prealbumin có thể tăng

- Người mắc bệnh: cường tuyến thượng thận, bệnh Hodgkin
- Người đang dùng thuốc các thuốc: Corticosteroid; Các thuốc kháng viêm non-steroid liều cao; thuốc progesteron hoặc các sản phẩm có chứa progesteron
- Người uống rượu nhiều (Trị số prealbumin sau 7 ngày sẽ trở về trị số ban đầu)

### 3. Trị số Prealbumin có thể giảm

- Suy dinh dưỡng; chế độ ăn thiếu protein; Rối loạn tiêu hóa mạn tính gây kém hấp thu
- Trong các bệnh: Nhiễm khuẩn nặng, bệnh lý gan, cường giáp
- Nguyên nhân khác: thiếu kẽm; trong trường hợp sau phẫu thuật (Đáp ứng của protein phase cấp âm tính)
- Việc sử dụng các loại thuốc như amiodarone, estrogen và một số thuốc tránh thai có thể gây giảm nồng độ prealbumin

#### \* Nhận định trong chẩn đoán suy dinh dưỡng

Prealbumin <5 mg/dL: dự báo tiên lượng xấu

Prealbumin <11 mg/dL: tích cực bổ sung dinh dưỡng.

Prealbumin <15: bổ sung dinh dưỡng bổ sung dinh dưỡng hai lần một tuần

Theo dõi đáp ứng điều trị:

- Prealbumin tăng lên khoảng 2 mg/dL/ ngày
- Prealbumin trở về bình thường sau khoảng 8 ngày

### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả chỉ khi:
  - + Nồng độ bilirubin > 1026  $\mu\text{mol/L}$  (60 mg/dL)
  - + Mẫu bị huyết tán nồng độ Hb > 310  $\mu\text{mol/L}$  (500 mg/dL )
  - + Nồng độ triglycerid > 19,53mmol/L (1730 mg/dL).
  - + Yếu tố dạng thấp (Rheumatoid factor) > 100 IU/mL
  - + Người bệnh uống rượu

#### - Xử trí

Khi lấy máu tránh gây vỡ hồng cầu, mẫu bị vỡ hồng cầu nên loại và yêu cầu lấy mẫu máu khác thay thế.

## **130. ĐỊNH LƯỢNG PROCALCITONIN**

Procalcitonin (PCT) là tiền nội tiết tố có 116 acid amin trọng lượng phân tử 127 kD. PCT được tiết bởi tế bào C tuyến giáp, phổi và tụy. Khi nhiễm trùng nồng độ PCT tăng cao trong máu. Xét nghiệm PCT thường được chỉ định trong các bệnh nhiễm trùng nặng như nhiễm khuẩn huyết, viêm tụy, viêm phổi do thở máy...

### **I. NGUYÊN LÝ**

Procalcitonin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Procalcitonin có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng procalcitonin đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng procalcitonin đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ procalcitonin có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Procalcitonin, chất chuẩn Procalcitonin, chất kiểm tra chất lượng Procalcitonin.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin và K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ngày ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rẽ đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm procalcitonin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Procalcitonin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Procalcitonin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường:  $<0,05$  ng/mL

- Procalcitonin máu tăng trong: Nhiễm trùng huyết (có giá trị tiên lượng nhiễm trùng huyết), Viêm tụy cấp (có giá trị tiên lượng biến chứng trong VTC), Viêm phổi do thở máy hoặc viêm đường hô hấp mắc phải trong cộng đồng (có giá trị hướng dẫn sử dụng kháng sinh và theo dõi diễn biến bệnh).

- Các trường hợp tăng Procalcitonin không do nhiễm trùng: Soc tim kéo dài hay nghiêm trọng, Ung thư phổi tế bào nhỏ hay ung thư tế bào C của tuyến giáp, Sau chấn thương nặng, can thiệp phẫu thuật nặng, bỏng lớn, Trẻ sơ sinh (48h sau sinh).

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin  $< 25$  mg/dL hay  $428 \mu\text{mol/L}$ .

+ Tán huyết: Hemoglobin  $<0.9$  g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride  $< 1500$  mg/dl.

+ Biotin  $<30$  ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều  $> 5$  mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ procalcitonin tới  $1000$  ng/mL



+ RF <1500 IU/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 131. ĐỊNH LƯỢNG PROLACTIN

Prolactin là hormone của thùy trước tuyến yên, được tạo thành từ 198 acid amin, có trọng lượng phân tử khoảng 22-23 kD. Tuyến đích của prolactin là tuyến vú. Nó có vai trò trong việc phát triển và biệt hóa tuyến vú. Nồng độ Prolactin cao ức chế hoạt động tổng hợp steroid của buồng trứng, sản xuất và tiết nội tiết tố sinh dục của tuyến yên. Định lượng prolactin được dùng trong chẩn đoán những chu kỳ không rụng trứng, vô kinh do tăng prolactin và tăng tiết sữa, vú to ở nam giới và nghi ngờ có ung thư vú và u tuyến yên.

### I. NGUYÊN LÝ

Prolactin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Prolactin trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng Prolactin từ chuột gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng Prolactin từ chuột được đánh dấu bằng ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ Prolactin có trong mẫu thử.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

**2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...

- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn

- Control: ba mức

- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

**3. Người bệnh:** được giải thích trước khi thực hiện xét nghiệm, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

**4. Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên bác sỹ chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)...

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết

tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C trong vòng 14 ngày, ở - 20<sup>0</sup>C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: Nam: 4.6 – 21.4 ng/ml  
Nữ: 6.0 – 29-9 ng/ml
- Prolactin tăng trong:
  - + Suy sinh dục nam.
  - + Tổn thương vùng dưới đồi.
  - + U tuyến yên, u tiết prolactin lạc chỗ.
- Prolactin máu giảm trong:
  - + Thiếu năng tuyến yên yên.
  - + Sau phẫu thuật cắt tuyến yên

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

| Nguyên nhân                                                                              | Sai sót                                    | Xử trí                                                               |
|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin>513μmol/L, huyết tán, tăng lipid máu, biotin > 164 nmol/L | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm 15% | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại |
| Nồng độ > 12690 ng/mL                                                                    | Hiệu ứng hook-effect                       | Pha loãng bệnh phẩm                                                  |
| Nồng độ > dải đo (0,047 – 470 ng/mL)                                                     | Sai lệch kết quả                           | Pha loãng bệnh phẩm                                                  |

## 132. ĐIỆN DI PROTEIN

### I. NGUYÊN LÝ

Dùng dòng điện 1 chiều để dịch chuyển các tiểu phân tử protein trên môi trường gel dựa trên lực Lorenz. Những phân tử khác nhau sẽ dịch chuyển với tốc độ khác nhau mà ta có thể quan sát được trên điện di đồ.

Tốc độ di chuyển này được quyết định bởi 3 yếu tố: điện tích, kích thước và khối lượng phân tử.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy điện di tự động
- Hóa chất

Hóa chất được bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Huyết thanh

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### ***Chuẩn bị hóa chất***

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di protein.

##### ***Tiến hành kỹ thuật***

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm điện di protein theo protocol của máy.
- Tiến hành chuẩn điện di protein.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di protein. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo protocol của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### 1. Trị số bình thường

- Total protein: 64,0 - 83,0 g/L
- Albumin: 35,0 - 50,0 g/L
- Alpha-1 globulin: 1,0 - 3,0 g/L
- Alpha-2 globulin: 6,0 - 10,0 g/L
- Beta globulin: 7,0 - 12,0 g/L
- Gamma globulin: 7,0 - 16,0 g/L

### 2. Điện di protein thay đổi trong

- Bệnh đa u tủy xương (Kahler): là xét nghiệm chính để chẩn đoán do nó có thể định lượng kháng thể bất thường đặc trưng trong máu. Những biến chứng của bệnh này là: suy thận, thiếu máu, tăng canxi máu.
- Viêm gan cấp, xơ gan: Gamma Globulin tăng; Albumin giảm.
- Hội chứng thận hư đơn thuần:  $\alpha_2$  Globulin,  $\beta$  Globulin máu tăng;  $\gamma$  Globulin máu giảm.
- Lao phổi:  $\alpha_2$  Globulin,  $\gamma$  Globulin tăng

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 1. Trước phân tích

Mẫu máu phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, không có chứa chất chống đông, bảo quản ở 2-8°C.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

### 2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

### 3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 133. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN TOÀN PHẦN

### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng protein toàn phần để đánh giá tình trạng dinh dưỡng của người bệnh, phát hiện một số bệnh như đa u tủy xương, rối loạn protein, tình trạng nhiễm trùng, bệnh tự miễn, các bệnh lý gây mất protein.

Protein toàn phần trong máu của người bệnh được định lượng theo phương pháp so màu dựa trên nguyên tắc phản ứng Biure. Trong môi trường kiềm, những phân tử có từ 2 liên kết peptid trở lên sẽ tạo phức chất với ion  $\text{Cu}^{++}$ . Protein trong huyết thanh tác dụng với ion  $\text{Cu}^{++}$  trong môi trường kiềm tạo phức chất càng của màu xanh tím. Độ đậm của màu tỷ lệ thuận với nồng độ protein trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### *Phương tiện*

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh của hãng Roche (MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).
- Máy ly tâm
- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.
- Pipét tự động các loại 1000μl, 500 μl, 100μl, 50 μl và 10 μl.
- 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.

#### 2.3. Bệnh phẩm

- + Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông.
- + Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh.
- + Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 1 tháng ở nhiệt độ 2-8<sup>0</sup>C và 6 tháng ở nhiệt độ (-15)-(-25)<sup>0</sup>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 protein toàn phần trong máu.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

- Mẫu bệnh phẩm được dán barcode cùng số với tờ phiếu chỉ định xét nghiệm (nơi không có barcode sẽ được đánh số trên ống nghiệm và phiếu chỉ định).
- Mẫu bệnh phẩm được ly tâm, phân phối vào các máy phân tích.
- Phiếu chỉ định được nhập chỉ định bằng hệ thống phần mềm quản lý dữ liệu (nơi không có phần mềm sẽ được quản lý bằng sổ sách).
- Trước khi phân tích, máy phải được thực hiện các bước bảo dưỡng hàng ngày theo quy định của mỗi máy.
- Cài chương trình trên máy theo protocol của máy: chỉ làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy và khi có thay đổi giá trong chương trình cài đặt.
- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.
- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm định lượng protein toàn phần được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.
- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.
- Duyệt kết quả: người phân tích có trách nhiệm kiểm soát kết quả trên máy phân tích trước khi in qua hệ thống máy tính hoặc điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu ở nơi không có phần mềm quản lý số liệu

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

4.1. Trị số bình thường: 66 – 87 g/l

#### 4.2. Protein máu toàn phần có thể tăng trong:

- Mất nước (nôn, tả, mất mồ hôi, sốt cao kéo dài).
- Bệnh Đa u tuỷ xương.
- Bệnh 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 (bỏng).
- Mất protein qua đường tiêu hóa: Hội chứng giảm hấp thu, cắt ruột non, rò ruột, bệnh lý của ruột gây mất protein.
- Tăng huỷ protein (đái tháo đường, nhiễm độc tuyến giáp, suy kiệt do ung thư)
- Bệnh gan (viêm gan, xơ gan).

### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ

- Khi thấy kết quả protein toàn phần bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:

- + Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường gì không?
- + Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán
- + Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy 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: Aspirin, corticosteroid, estrogen, penicillin, phenytoin, procainamid, thuốc ngừa thai uống, progestin.
- + Tiêm vaccin gây miễn dịch trong vòng 6 tháng trước có thể gây tăng nồng độ globulin gây tăng nồng độ protein toàn phần trong máu.



## 134. ĐỊNH LƯỢNG PROGESTERONE

### I. NGUYÊN LÝ:

Progesterone là một steroid hormone có trọng lượng phân tử khoảng 314,5 dalton, được hình thành chủ yếu trong các tế bào hoàng thể và trong nhau thai vào thời kỳ mang thai. Nồng độ progesterone tăng cao một ngày trước khi rụng trứng. Progesterone được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Progesterone trong mẫu thử cạnh tranh với Progesterone bắt cặp với một peptid tổng hợp trong thuốc thử đánh dấu bằng chất ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ nghịch với nồng độ progesterone có trong mẫu thử.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** BS hoặc KỸ THUẬT VIÊN được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

**2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích.

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: ba mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cùn, găng tay ...

**3. Người bệnh:** được giải thích trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng

**4. Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C trong vòng 14 ngày, ở -20<sup>0</sup>C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25<sup>0</sup>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.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### 1. Trị số bình thường:

- Nữ:

- Pha nang: 0,1 – 1,5 ng/ml.
- Rụng trứng: 0,8 – 3,0 n/ml.
- Thở 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<br>(0,03-60 ng/mL) | Sai lệch kết quả | Pha loãng bệnh phẩm |
|-------------------------------------|------------------|---------------------|

## 135. ĐỊNH LƯỢNG PROCAINAMIDE

### I. NGUYÊN LÝ

Procainamide là thuốc chống loạn nhịp.

Procainamide được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn  $\beta$  galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Procainamide nó tác động lên Procainamide tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Procainamide trong mẫu cạnh tranh với Procainamide liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của  $\beta$  Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Procainamide có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Procainamide không có mặt trong mẫu thử. Procainamide liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ  $\beta$  Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Procainamide trong mẫu thử

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Procainamide, chất chuẩn Procainamide, chất kiểm tra chất lượng Procainamide.

### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Na, Li-heparin hoặc Na-EDTA . Bệnh phẩm ổn định 1 tuần ở 2–8°C, 1 tháng ở - 20°C.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Procainamide Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Procainamide. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Procainamide đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Nồng độ Procainamide trong khoảng 4 -10 mg/mL đủ đảm bảo tác dụng điều trị.

- Nồng độ Procainamide >16 mg/mL có thể gây độc.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026  $\mu$ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dL.

+ RF : < 1200 IU/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả)

## **136. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN S100**

### **I. NGUYÊN LÝ**

S 100 là một protein dimer tương đối nhỏ có trọng lượng phân tử 10,5 kD, có nhiều loại protein S100 khác nhau (khoảng 21 loại). S100 thấy ở một số tế bào như tế bào thần kinh, tế bào sừng... Xét nghiệm S100 thường được chỉ định trong một số bệnh như : Nhồi máu não, U hắc tố, U thần kinh...

Protein S100 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. S100 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng S100 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng S100 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ S100 có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm miễn dịch Elecsys 2010, Cobas e411, e170...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm S100, chất chuẩn S100, chất kiểm tra chất lượng S100.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông bởi xét nghiệm này yêu cầu sử dụng bệnh phẩm là huyết thanh. Không sử dụng huyết tương cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Mẫu ổn định trong 8 giờ ở 15-25°C, 2 ngày ở 2-8 °C, 3 tháng ở -20 °C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm S100. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm S100. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm S100 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Bình thường: 0.046 - 0.105 ug/mL

- Tăng trong: Nhồi máu não, U hắc tố, U thần kinh...

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.05g / dL.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin < 50 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF < 2500 IU/mL.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ Ferritin tới 100 000 ng/mL.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng.

## 137. ĐỊNH LƯỢNG ProGRP (Pro-Gastrin-Releasing-Peptide)

### I. NGUYÊN LÝ

GRP (Gastrin-Releasing-Peptide) được sản xuất thường xuyên bởi tế bào ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ (SCLC). Nhưng do GRP rất dễ bị phân hủy, nên xét nghiệm định lượng ProGRP (31-98) trong huyết thanh (ProGRP (31-98) một vùng có tận cùng là carboxyl chung cho 3 loại ProGRP biến thể ở người) là dấu ấn (marker) đáng tin cậy ở người bệnh SCLC.

Xét nghiệm ProGRP là xét nghiệm miễn dịch hai bước sử dụng phép phân tích Miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm linh hoạt để định lượng ProGRP (31-98) trong huyết tương người. Ở bước một: mẫu, dung dịch pha loãng, và kháng ProGRP phủ trên vi hạt thuận từ được kết hợp lại. ProGRP có trong mẫu gắn với các vi hạt phủ kháng ProGRP. Sau khi rửa, chất kết hợp kháng ProGRP có đánh dấu acridinium được cho vào ở bước hai để tạo hỗn hợp phản ứng. Tiếp theo sau là một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng ProGRP trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy Architect

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Máy Architect ir1000, ir 2000
- Ống nghiệm (EDTA, sodium heparin, lithium heparin ) dây garô, bơm tiêm 5mL.

##### 2.2. Hóa chất

Bộ Thuốc Thử, 100 Test ARCHITECT ProGRP

- CÁC VI HẠT: 1 chai (6,6 mL) Anti-ProGRP (chuột, kháng thể đơn dòng) phủ trên vi hạt trong dung dịch đệm TRIS với chất ổn định protein (bò). Nồng độ tối thiểu: 0,04% rắn.
- CHẤT KẾT HỢP: 1 chai (5,9 mL) Anti-ProGRP có đánh dấu acridinium (chuột, kháng thể đơn dòng) phủ trên vi hạt trong dung dịch đệm TRIS với chất ổn định protein (bò). Nồng độ tối thiểu: 106 ng/mL.



- DUNG DỊCH HÒA LOÃNG: 1 chai (2,9 mL). Pha loãng xét nghiệm ProGRP chứa dung dịch đệm TRIS.

**3. Người bệnh:** Là những người bệnh nghi ngờ ung thư phổi, ung thư hạch (carcinoids), ung thư tuyến giáp thể tủy, hay các ung thư ác tính thần kinh nội tiết khác.

**4. Phiếu xét nghiệm:** Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Khuyến cáo nên sử dụng mẫu huyết tương cho xét nghiệm ARCHITECT ProGRP.
- Huyết tương: Dùng ống EDTA, sodium heparin, lithium heparin
- Các chất chống đông có thể có hiệu ứng pha loãng làm nồng độ mẫu người bệnh thấp.
- Điều kiện mẫu: Không được sử dụng các mẫu sau:
  - + Bị bất hoạt do nhiệt, hỗn hợp, bị tán huyết ( $> 500 \text{ mg/dL}$ ), có thể thấy nhiễm khuẩn, mẫu lấy từ tử thi hay các dịch cơ thể khác.
  - + Để có kết quả xác thực: mẫu huyết tương không có hồng cầu hay các vật thể lạ khác.
  - + Thận trọng khi xử lý các mẫu xét nghiệm của người bệnh để ngăn ngừa nhiễm chéo.
  - + Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí bằng que dùng riêng cho phân tích trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.
  - + Mẫu nên được xét nghiệm ngay sau đó để tránh ProGRP bị biến chất trong mẫu. Mẫu ổn định trong 8 giờ ở nhiệt độ từ  $15\text{-}30^{\circ}\text{C}$ , 24 giờ ở  $2\text{-}8^{\circ}\text{C}$ . Nếu thực hiện xét nghiệm trễ hơn thời gian quy định, cần tách cục máu đông, hồng cầu hay gel phân tách ra huyết tương và bảo quản đông lạnh ( $\leq -15^{\circ}\text{C}$ ) trong 7 ngày, bảo quản ở  $\leq -70^{\circ}\text{C}$  (trong 12 tháng), xét nghiệm cho nồng độ ổn định.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT ProGRP vào hệ thống ARCHITECT ir1000 hoặc ir 2000.
- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.
- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy lại.
- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

Xử lý mẫu huyết tương: Mẫu huyết tương không yêu cầu nạp ưu tiên, và không được để trên máy > 3 giờ.

*Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng.*

- Kiểm tra mẫu chuẩn (Calibrator ) và mẫu kiểm tra chất lượng (Control) không đông lạnh trước khi sử dụng. Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng ProGRP ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.

- Yêu cầu chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng ARCHITECT ProGRP phải giữ theo chiều thẳng đứng và nhỏ 7 giọt mẫu chuẩn hay 4 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng vào từng cốc đựng mẫu tương ứng. Sau đó nạp mẫu và nhấn nút RUN

*Quy trình pha loãng mẫu*

Mẫu với nồng độ ProGRP > 5000 pg/mL sẽ được đánh dấu (flag).

“> 5000” và có thể pha loãng. Máy sẽ thực hiện pha loãng theo tỉ lệ 1:10 cho mẫu theo lệnh của người thực hiện, tự động tính toán nồng độ của mẫu và báo cáo kết quả. Quy trình pha loãng thủ công: Tỷ lệ pha loãng không nên vượt quá 1:10.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm ProGRP được dùng kết hợp với các phương pháp lâm sàng khác để hỗ trợ chẩn đoán phân biệt ung thư phổi, theo dõi và điều trị người bệnh bị ung thư phổi tế bào nhỏ.

**1. Bình thường:** Nồng độ ProGRP huyết tương là < 65 pg/mL

**2. Giới hạn đo của máy:** Nồng độ ProGRP từ 3 - 5000 pg/mL

**3. Nồng độ của ProGRP cao** trong ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư hạch (carcinoids), ung thư phổi tế bào lớn chưa biệt hóa với thần kinh nội tiết, ung thư tuyến giáp thể tủy, hay các ung thư ác tính thần kinh nội tiết khác (neuroendocrine malignancies).

ProGRP hữu ích trong chẩn đoán phân biệt khối u phổi như ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. ProGRP là chỉ điểm có độ nhạy cao nhất cho ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ (SCLC) so sánh với các bệnh lành tính của phổi. Định lượng nồng độ ProGRP là rất tốt cho việc theo dõi đáp ứng điều trị và phát hiện sự tái phát bệnh ung thư phổi.

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những mẫu máu sau đây có thể cho ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

Với mẫu huyết thanh, nồng độ ProGRP có thể bị biến chất do enzym phân giải protein nội sinh (endogenous proteases) được tạo ra trong quá trình đông máu. ***ProGRP bền vững trong mẫu huyết tương hơn là huyết thanh, do đó không sử dụng mẫu huyết thanh để đo ProGRP.***

- Mẫu có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác hay mẫu đã được bảo quản đông lạnh và rã đông cần phải chuyển qua ống ly tâm và ly tâm ít nhất ở  $\geq 10000$  RCF (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cốc đựng mẫu để chạy xét nghiệm.

- Các mẫu xét nghiệm đã ly tâm có màng lipid ở trên cùng phải được hút vào cup chứa mẫu . Cần phải cẩn thận chỉ chuyển phần dịch trong không được lẫn lipid.

## **138. ĐỊNH LƯỢNG PSA TỰ DO (fPSA – free prostate specific antigen)**

PSA là một glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 30.000 dalton. PSA được tiết bởi các tế bào biểu mô của tuyến tiền liệt. Phần lớn PSA trong máu gắn với các protein huyết tương, lượng nhỏ PSA không gắn với protein được gọi là PSA tự do (free PSA- fPSA). Xét nghiệm fPSA thường được chỉ định trong ung thư tiền liệt tuyến, khi đó sẽ tính tỷ lệ phần trăm của fPSA/tPSA để tiên lượng bệnh ác tính hay không.

### **I. NGUYÊN LÝ**

PSA tự do được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. PSA tự do có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PSA đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PSA đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ PSA có trong mẫu thử.

Để định lượng PSA tự do, đệm phosphat pH=7.4 và một loại kháng thể kháng PSA được sử dụng. Khác với định lượng PSA toàn phần, sử dụng hai loại kháng thể kháng PSA và đệm phosphat pH=6.0.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm PSA, chất chuẩn PSA, chất kiểm tra chất lượng PSA.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin và K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 5 ngày ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm PSA tự do. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm PSA tự do. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm PSA tự do đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Bình thường fPSA/tPSA > 25%

Tỷ số này giảm thấp trong trường hợp nghi ngờ bệnh ác tính.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL hay 1112  $\mu$ mol/L.
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 1.0 g/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
  - + Biotin < 30 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
  - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ fPSA tới 15 000 ng/mL.
  - + RF < 1500 IU/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **139. ĐỊNH LƯỢNG PSA TOÀN PHẦN (TPSA- total prostate specific antigen)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

PSA là một glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 30.000 dalton. PSA được tiết bởi các tế bào biểu mô của tuyến tiền liệt. Xét nghiệm PSA toàn phần thường được chỉ định trong ung thư tiền liệt tuyến

PSA toàn phần được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. PSA có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PSA đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PSA đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ Ferritin có trong mẫu thử.

Để định lượng PSA toàn phần, đệm phosphat pH=6.0 và hai loại kháng thể kháng PSA được sử dụng. Khác với định lượng PSA tự do, chỉ sử dụng một loại kháng thể kháng PSA và đệm phosphat pH=7.4.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm PSA, chất chuẩn PSA, chất kiểm tra chất lượng PSA.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin và K3-EDTA và Sodium Citrat. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 5 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm PSA. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm PSA. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm PSA đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: < 4.0 ng/ml
- TPSA máu tăng trong: Ung thư tiền liệt tuyến, Viêm hay phì đại lành tính tiền liệt tuyến.

Lưu ý: việc thăm khám tiền liệt tuyến qua thăm trực tràng cũng có thể làm tăng nồng độ TPSA.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL hay 1112  $\mu$ mol/L.
  - + Tán huyết: Hemoglobin <1.4 g/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
  - + Biotin <60 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
  - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ tPSA tới 17 000 ng/mL.
  - + RF <1500 IU/mL



- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **140. ĐỊNH LƯỢNG PTH (PARATHYROID HORMONE)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

PTH là hormon của tuyến cận giáp có vai trò trong chuyển hóa canxi (tăng canxi máu). Xét nghiệm PTH thường được chỉ định trong một số bệnh như: Cường cận giáp, Loạn dưỡng xương, Suy cận giáp...

PTH được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. PTH có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PTH đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PTH đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ PTH có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm PTH, chất chuẩn PTH, chất kiểm tra chất lượng PTH.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8h ở 15-25°C, 3 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm PTH. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm PTH. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm PTH đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 1.6 - 6.9 pmol/l

- PTH máu tăng trong: Cường cận giáp, Loạn dưỡng xương, Có thai, loạn sản sinh dục nữ.

- PTH máu giảm trong: Suy cận giáp, Tăng Ca máu không do tuyến cận giáp.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Sử dụng nhầm chất chống đông (Xét nghiệm yêu cầu sử dụng chất chống đông EDTA). Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL hay 1112  $\mu$ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin <1.1 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin <50 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ PTH tới 17000 pg/mL hay 1802 pmol/L

+ RF <1500 IU/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 141. ĐỊNH LƯỢNG ACTIVE RENIN

Renin là một enzym có trọng lượng phân tử 37 kDa. Renin được sản xuất dưới dạng prorenin, một tiền chất không hoạt động bởi tế bào cạnh cầu thận gồm 386 axit amin. Renin thuộc hệ thống Renin-Angiotensin-Aldosterone (RAAS) kiểm soát huyết áp, dòng máu thận, sự lọc cầu thận, và thăng bằng nội môi natri / kali. Renin huyết tương là một chỉ số tốt cho hoạt động của RAAS.

### I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng active renin trong huyết tương người

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên - kháng thể, theo phương pháp sandwich: Các giếng được phủ bởi kháng thể đơn dòng (chuột) đặc hiệu cho kháng nguyên của phân tử active renin người. Mẫu người bệnh chứa renin được cho vào các giếng, rồi ủ cùng với dung dịch đệm. Sau khi ủ, những thành phần không kết hợp được rửa đi. Cuối cùng, enzym liên hợp là kháng thể kháng renin đơn dòng kết hợp với HRP (horseradish peroxidase) được thêm vào, rồi ủ, sau đó các enzym liên hợp không kết hợp sẽ được rửa sạch. Lượng peroxidase kết hợp thì tỉ lệ với nồng độ renin trong mẫu. Sau khi cơ chất thêm vào, cường độ màu tăng lên và tỉ lệ với nồng độ active renin trong mẫu người bệnh, được đo ở bước sóng 450 nm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp bởi hãng DRG của Đức (EIA-5125)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Enzyme liên hợp
- + Chuẩn (dạng đông khô)
- + Cơ chất
- + Control cao và thấp (dạng đông khô)
- + Dung dịch rửa
- + Dung dịch đệm
- + Dung dịch ngừng phản ứng
- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp

- + Pipet chính xác
- + Các cốc có nắp đậy
- + Đầu côn pipet dùng một lần
- + Máy lắc tốc độ 700 vòng/phút
- + Control 2 mức thấp và cao

### 3. Người bệnh

**Lưu ý:** việc thu thập mẫu người bệnh phải được kiểm soát cẩn thận, vì một số yếu tố sinh lý có thể ảnh hưởng đến bài tiết renin.

- + *Tư thế:* người bệnh phải nằm xuống hơn 1 giờ hoặc đứng thẳng hơn 1 giờ.
- + *Các dao động Renin hàng ngày:* nên lấy mẫu từ 7 - 10 giờ sáng, nếu có thể.
- + *Chế độ ăn uống:* phải biết được lượng natri trong chế độ ăn uống (bằng cách đo natri niệu trong 24 giờ).
- + *Thuốc:* mức độ renin hoạt động có thể bị ảnh hưởng bởi thuốc hạ huyết áp (ví dụ như thuốc lợi tiểu, ức chế men chuyển, chẹn beta, giãn mạch).
- + *Phụ nữ có thai:* mức độ renin không hoạt động và hoạt động tăng trong thời kỳ mang thai.
- + *Chu kỳ kinh nguyệt:* tăng mức độ renin hoạt động trong pha 2 của chu kỳ (*lấy mẫu trong pha 1*).
- + *Tuổi:* mức renin hoạt động giảm dần theo tuổi.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định và phải điền đầy đủ thông tin của người bệnh .

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Sử dụng huyết tương chống đông bằng EDTA.
- Ly tâm, tách *cúp có nắp đậy*, mẫu nên được để ở nhiệt độ phòng và không được để ở 2-8°C trước khi xử lý, sự hoạt hóa cryo của protein có thể xảy ra ở nhiệt độ 2-8°C, cho giá trị dương tính giả (Sự hoạt hóa cryo là sự chuyển đổi protein thành renin ở 2-8°C).
- Xử lý mẫu: Nếu mẫu chưa được làm trong 4 giờ đầu thì bảo quản ở - 20°C hoặc thấp hơn.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

#### 2.1. Chuẩn bị thuốc thử

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

### **2.1.1. Dung dịch rửa:**

Hòa 30 ml dung dịch rửa với 1170 ml nước cất để được dung dịch 1200 ml.

Ổn định 2 tuần ở nhiệt độ phòng.

### **2.1.2. Chuẩn:**

- Từ S0- S5 với các nồng độ lần lượt: 0 pg/mL; 4 pg/mL; 16 pg/mL; 32 pg/mL; 64 pg/mL; 128 pg/mL

- Cho 1ml nước cất vào lọ chuẩn (dạng đông khô), để tối thiểu 10 phút, lắc đều trước khi sử dụng.

- Ổn định 2 ngày khi bảo quản ở 2 – 8° C, lâu hơn ở - 20° C

### **2.1.3. Control:**

- Mức thấp: 8,97 – 13,15 pg/mL và mức cao: 51,52 – 76,20 pg/mL

- Cho 1ml nước cất vào lọ Control (dạng đông khô), để tối thiểu 10 phút, lắc đều trước khi sử dụng.

- Ổn định 2 ngày khi bảo quản ở 2 – 8° C, lâu hơn ở - 20° C

## **2.2. Tiến hành**

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.

- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm này khoảng 215 phút

- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

+ Hút 150 µl dung dịch đệm vào tất cả các giếng.

+ Hút 50 µl mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh tiếp vào các giếng.

+ Ủ trên máy lắc tốc độ 700 vòng/phút, trong 90 phút ở nhiệt độ phòng.

+ Rửa các giếng 4 lần với 300 µl dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.

+ Hút 100 µl enzym liên hợp vào mỗi giếng.

+ Ủ trên máy lắc tốc độ 700 vòng/phút, trong 90 phút, ở nhiệt độ phòng.

+ Rửa các giếng 4 lần với 300 µl dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.

+ Hút 100 µl cơ chất vào mỗi giếng.

+ Ủ trên máy lắc 700 vòng/phút trong 15 phút ở nhiệt độ phòng.

+ Hút 100 µl dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng.

+ Tiến hành đo trong 10 phút.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham khảo:

Tư thế đứng thẳng: < 4,00 - 37,52 pg/mL

Tư thế nằm ngửa: < 4,00 - 23,70 pg/mL

- Ý nghĩa lâm sàng: Xét nghiệm active renin sẽ có ý nghĩa lâm sàng để chẩn đoán, điều trị và theo dõi trong những trường hợp sau:

- + Chẩn đoán tăng huyết áp.
- + Phân loại tăng huyết áp.
- + Phát hiện các khối u sản xuất Renin ở thận.
- + Theo dõi điều trị của liệu pháp corticoid.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút).
- Mẫu có kết quả >128 pg/ml thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch đệm.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lấy đúng thời gian, tư thế và những yêu cầu khác như đã nêu ở phần người bệnh.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.



## **142. ĐỊNH LƯỢNG RF (Rheumatoid factors)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

RF được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng RF trong thuốc thử kết hợp với RF trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ RF có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm RF, chất chuẩn RF, chất kiểm tra chất lượng RF.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-/Na-heparin, Na<sup>2</sup>-/K<sup>2</sup>-/K<sup>3</sup>-EDTA . Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ở 15-25°C, 3 ngày ở 2-8°C, 4 tuần ở (-15)-(-25)°C

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm RF. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm RF. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm RF đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ Bình thường: RF < 14 U/mL

+ Tăng trong: Viêm khớp dạng thấp, Hội chứng Sjogren. Nồng độ RF cao liên quan tới mức độ nặng của bệnh.

Ngoài ra RF còn có thể tăng lên trong một số bệnh như: viêm gan mãn tính, xơ gan mật nguyên phát, viêm nội tâm mạc do vi khuẩn, bệnh bạch cầu, viêm da, lupus ban đỏ, nhiễm một số virus ... và ở khoảng 5-10% người khỏe mạnh, đặc biệt là người cao tuổi.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026  $\mu$ mol/L.
- Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL hay 621  $\mu$ mol/L.
- Huyết thanh đục: Triglycerid < 500 mg/dL.
- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ RF tới 6000 IU/mL.

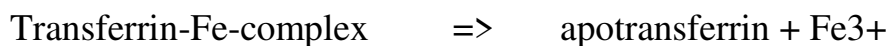
Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 143. ĐỊNH LƯỢNG SẮT

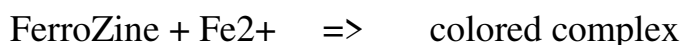
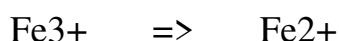
### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng Sắt (Fe) trong mẫu máu của người bệnh theo phương pháp đo màu theo phản ứng.

$$pH < 2$$



*ascorbate*



Trong huyết thanh, sắt kết hợp với protein. Trong môi trường acid liên kết Fe-Transferrin bị phá vỡ. Sau đó sắt tạo phức hợp màu với Ferrozine. Độ đậm màu sắc tỷ lệ thuận với nồng độ sắt trong bệnh phẩm, được đo ở bước sóng 570nm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Fe, chất chuẩn Fe, chất kiểm tra chất lượng Fe.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin; không được sử dụng chất chống đông EDTA, Oxalat, Citrat. Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 7 ngày ở 15 - 25°C, 3 tuần ở 2 -8°C, vài năm ở -15°C đến -25°C .
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rẽ 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

- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số tham khảo: 8.1- 28.6  $\mu\text{mol/L}$ .

- Sắt (Fe) máu tăng trong: Tăng sự phá huỷ hồng cầu: sốt đái huyết sắc tố, thiếu máu huỷ huyết, Bệnh gan.

- Sắt (Fe) máu giảm trong: Các thiếu máu thiếu sắt, thiếu máu ác tính, Giảm hấp thu sắt, Nhiễm trùng cấp và mạn tính, Các tân sản, carcinoma, Thận hư, Sau dùng ACTH hoặc các corticoid.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Sử dụng sai mẫu bệnh phẩm: sử dụng huyết tương chống đông bằng EDTA, Oxalat, Citrat. Khắc phục: Cần huấn luyện cán bộ nắm rõ yêu cầu khi lấy bệnh phẩm và cán bộ nhận bệnh phẩm biết rõ những bệnh phẩm không đạt yêu cầu.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026  $\mu\text{mol/L}$ .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 80 mg/dL.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1000 mg/dL .

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

## **144. ĐỊNH LƯỢNG SCCA (SQUAMOUS CELL CARCINOMA ANTIGEN)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

SCCA là một mảnh vỡ của TA-4, một kháng nguyên ung thư được mô tả đầu tiên bởi Kato và Torigoe vào năm 1977. TA-4 là một glycoprotein với trọng lượng phân tử 48.000 Dalton được tiết ra từ các mô ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ tử cung.

Xét nghiệm SCCA (kháng nguyên ung thư biểu mô tế bào vảy) là xét nghiệm miễn dịch hai bước sử dụng phép phân tích Miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm linh hoạt để định lượng kháng nguyên SCC trong huyết thanh và huyết tương người. Ở bước một: Kháng nguyên SCC có trong mẫu thử gắn với kháng thể kháng SCC được phủ lên các vi hạt. Sau khi rửa kháng thể kháng SCC có đánh dấu acridinium được thêm vào ở bước hai. Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan thuận giữa lượng kháng nguyên SCC trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện.

### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** Bác sĩ và cử nhân xét nghiệm được đào tạo vận hành máy Architect.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện:**

- Máy Architect ir1000, ir 2000
- Ống nghiệm có chất chống đông (Potassium EDTA, sodium heparin, sodium EDTA), ống không có chất chống đông
- . Hóa chất

Bộ thuốc thử, 100 test ARCHITECT SCC.

+ CÁC VI HẠT: 1 chai (6.6ml) các vi hạt: Kháng thể với các vi hạt phủ kháng nguyên SCC (kháng thể đơn dòng từ chuột) trong đệm MES có chất ổn định protein (bò).

+ CHẤT KẾT HỢP: 1 chai (5.9 ml) chất kết hợp: kháng thể được đánh dấu Acridinium với kháng nguyên SCC (chuột, đơn dòng) kết hợp trong đệm MES có chất ổn định protein (bò).

**3. Người bệnh:** Người bệnh bị ung thư cổ tử cung .

**4. Phiếu xét nghiệm:** Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện

### **III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

##### **2.1.1. Loại mẫu:**

- Huyết thanh (ống không có chất chống đông), Huyết tương (potassium EDTA, sodium sodium heparin, sodium EDTA).
- Các chất chống đông lỏng có thể gây pha loãng dẫn đến làm nồng độ mẫu người bệnh thấp.

##### **2.1.2. Điều kiện mẫu:**

- Không sử dụng các mẫu sau: bị bất hoạt do nhiệt, bị tán huyết ( $> 500 \text{ mg/dL}$ ), có thể thấy nhiễm khuẩn, mẫu lấy từ tử thi hay các dịch cơ thể khác.

Để có kết quả xác thực: mẫu huyết thanh và huyết tương không nên có fibrin, hồng cầu hay các vật thể lạ khác. Nếu mẫu được ly tâm trước khi quá trình hình thành cục máu đông kết thúc hoàn toàn thì sự hiện diện của fibrin có thể gây ra sai số trong kết quả. Đối với những mẫu mới đã đông khuyến cáo chuyển mẫu sang ống ly tâm và ly tâm ở  $\geq 10.000 \text{ RCF}$  (Relative Centrifugal Force) trong 10 phút trước khi xét nghiệm. Sau đó hút phần dịch trong sang cup đựng mẫu để chạy xét nghiệm.

- Để có kết quả tối ưu, cần kiểm tra bọt khí trong mẫu bằng mắt. Loại bỏ bọt khí trước khi xét nghiệm. Mỗi xét nghiệm dùng một que riêng để tránh nhiễm chéo.

##### **2.1.3. Bảo quản:**

Mẫu để sau 24 giờ nên tách huyết thanh hay huyết tương để bảo quản 7 ngày ở nhiệt độ  $2-8^{\circ}\text{C}$  . Nếu thực hiện XN sau 7 ngày phải bảo quản đông lạnh  $\leq -20^{\circ}\text{C}$ .

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT SCCA vào máy Architect.
- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.
- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đậy lại.
- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

*Chuẩn bị Mẫu chuẩn và Mẫu chứng.*

- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng SCCA ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.
- Yêu cầu về lượng mẫu của mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng ARCHITECT

SCCA, giữ chai theo chiều thẳng đứng và nhỏ 5 giọt cho mỗi mẫu chuẩn hay 4 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng vào từng cốc đựng mẫu tương ứng.

- Khoảng hiệu chuẩn: 0-70 ng/mL. Khi đường cong chuẩn ARCHITECT SCCA được chấp nhận và lưu lại, không cần thực hiện hiệu chuẩn cho tất cả các mẫu xét nghiệm sau đó, trừ khi:

+ Sử dụng lô thuốc thử mới.

+ Mẫu kiểm tra chất lượng cho kết quả nằm ngoài giới hạn.

Nạp mẫu và nhấn nút RUN.

Quy trình pha loãng mẫu: Mẫu với nồng độ SCCA > 70 ng/mL có thể pha loãng bằng tay theo tỉ lệ 1:10 (20 µL mẫu + 180 µL SCCA Calibrators A).

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Ung thư cổ tử cung là một trong những ung thư sinh dục nữ hay gặp nhất trên phạm vi toàn cầu.

Khoảng 80% đến 90% ung thư cổ tử cung là ung thư tế bào vảy. Sự thay đổi nồng độ kháng nguyên ung thư biểu mô tế bào vảy (SCCA) cũng tỷ lệ với tiến trình của bệnh. Do vậy định lượng nồng độ kháng nguyên này rất hữu ích trong việc chẩn đoán, theo dõi điều trị bệnh.

1. Bình thường: Nồng độ SCCA <1,5 ng/mL

2. Giới hạn đo của máy: Từ 0,1ng/mL đến 70 ng/mL

3. Bệnh lý:

- Nồng độ kháng nguyên ung thư biểu mô tế bào vảy (SCCA) tăng trong các khối u ác tính tế bào vảy khác như khối u ở phổi, thực quản, đầu và cổ, ống hậu môn và da.

- Trong ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ tử cung, nồng độ kháng nguyên ung thư biểu mô tế bào vảy (SCCA) huyết thanh tăng gặp ở 45-83% số người bệnh ung thư cổ tử cung biểu mô tế bào vảy và ở 66-84% ung thư cổ tử cung tế bào vảy tái phát. Sự tăng nồng độ SCCA tỷ lệ với mức độ nặng của ung thư cổ tử cung tế bào vảy. Các người bệnh ung thư có nồng độ SCCA tăng trở lại sau phẫu thuật 2-6 tuần có tỷ lệ tái phát 92%. Nồng độ SCCA có liên quan đến sự tái phát khối u và tiên lượng của bệnh.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Nếu kết quả nồng độ SCCA không phù hợp với lâm sàng cần làm thêm các xét nghiệm khác để khẳng định kết quả. Muốn có chẩn đoán chính xác cần kết hợp với triệu chứng lâm sàng và các xét nghiệm khác.

- Không nên sử dụng xét nghiệm nồng độ SCCA như một xét nghiệm sàng lọc ung thư.

## **145. ĐỊNH LƯỢNG SHBG (HUMAN SEX HORMONE-BINDING GLOBULIN)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

SHBG là globulin gắn với hormon sinh dục như Testosteron và estradiol, SHBG là glycoprotein có trọng lượng phân tử 95kD. Xét nghiệm thường được chỉ định trong một số bệnh lý có rối loạn hormon sinh dục.

SHBG được định lượng theo nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. SHBG có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng SHBG đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng SHBG đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ SHBG có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm miễn dịch Elecsys 2010, Cobas e411, e170...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm SHBG, chất chuẩn SHBG, chất kiểm tra chất lượng SHBG.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc chất chống đông Li-Heparin. Không sử dụng huyết tương EDTA cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Mẫu ổn định trong 3 ngày ở 2-8 °C, 1 tháng ở -20 °C.



- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm SHBG. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm SHBG. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm SHBG đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

-Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Bình thường:

+ Nam (17- 65 tuổi) SHBG từ 14.5 - 48.4 nmol/L

+ Nữ (17 - 50 tuổi) SHBG từ 26.1 - 110 nmol/L

+ Nữ mãn kinh từ 14.1 - 68.9 nmol/L

SHBG giảm trong suy giáp, buồng trứng đa nang, béo phì, rậm lông, tăng androgen, rụng tóc, bệnh to cực.

- Tính toán chỉ số FTI (Free Testosterone index)= Testosterone (nmol/L)/ SHBG(nmol/L).

+ Nam (17 - 65 tuổi) 33.8 - 106%

+ Nữ (17 - 50 tuổi) 0.51 - 6.53%

+ Nữ mãn kinh từ 0.39 - 1.44%

- Tính toán FTc (Free Testosterone calculated) và BATc (Bioavailable Testosterone) thông qua Testosterone, SHBG và nồng độ Albumin ước tính 4.3 g/dL. Công thức tính toán ở địa chỉ [www.issam.ch/freetesto.htm](http://www.issam.ch/freetesto.htm).

Bình thường FTc:

+ Nam (17 - 65 tuổi) 0.254 - 0.637 nmol/L, 1.68 - 2.97%

+ Nữ (17 - 50 tuổi) 0.004 - 0.039 nmol/L, 0.76 - 2.06%

+ Nữ mãn kinh từ 0.002 - 0.037 nmol/L, 1.09 - 2.67%

Bình thường BATc:

+ Nam (17 - 65 tuổi) 4.78 - 14.9 nmol/L, 39.4- 69,5%

+ Nữ (17 - 50 tuổi) 0.08 - 0.93 nmol/L, 17.8 - 48.3%

+ Nữ mãn kinh từ 0.06 - 0.88 nmol/L, 25.5 - 62.7%

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin <2.9 / dL

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2700 mg/dl.

+ Biotin <60 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF <1160 IU/mL

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ SHBG tới 1000 ng/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng.

## **146. ĐỊNH LƯỢNG SPERM ANTIBODY**

(kháng thể kháng tinh trùng)

Kháng thể kháng tinh trùng có thể gây ra vô sinh ở phụ nữ hoặc nam giới. Kháng thể kháng tinh trùng có thể hòa tan trong tinh dịch khi xuất tinh hoặc gắn trên bề mặt của tinh trùng. Ở phụ nữ, kháng thể kháng tinh trùng có thể được tìm thấy trong chất nhầy cổ tử cung, dịch ống dẫn trứng và dịch nang.

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng kháng thể tinh trùng trong tinh dịch người.

### **I. NGUYÊN LÝ**

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên-kháng thể theo phương pháp sandwich: các giếng được phủ bởi protein tinh trùng. Standard, tinh dịch và control được thêm vào, kháng thể tinh trùng trong tinh dịch kết hợp với protein tinh trùng phủ trên giếng, như vậy nó được cố định vào đĩa. Sau khi rửa đi các thành phần không kết hợp không kết hợp, enzyme liên hợp được thêm vào. Tiếp sau khi các giếng được rửa lần hai, cơ chất được thêm vào giếng. Tiếp theo, thêm dung dịch ngừng phản ứng thêm vào sẽ chuyển từ màu xanh sang vàng, đậm độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể tinh trùng trong tinh dịch, được đo ở bước sóng 450 nm.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- + Thuốc thử được cung cấp của hãng DRG, Đức (EIA-4249)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Enzyme liên hợp
- + Chuẩn: 4 lọ (0,5 ml/lọ)
- + Cơ chất
- + Control (0,5ml/lọ)
- + Dung dịch rửa
- + Dung dịch đậm
- + Dung dịch ngừng phản ứng
- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
- + Pipet chính xác để hút 5  $\mu$ l, 50  $\mu$ l, 500  $\mu$ l

- + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một lần
- + Nước cất

**3. Người bệnh:** Không phụ thuộc nhịp sinh học hay yêu cầu gì

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, phải điền đầy đủ thông tin người bệnh.

### **III. Các bước tiến hành**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Thu thập tinh trùng mới xuất tinh, ly tâm ở nhiệt độ phòng, tách phần nổi lên trên vào tube, đậy kín. Tránh lặp lại bước làm đông và rã đông nhiều lần.

- + Xử lý tất cả các mẫu kỹ, tránh nhiễm bẩn
- + Mẫu có thể được bảo quản với thời gian khác nhau:

Nhiệt độ môi trường lên đến 30 °C: đến ba ngày

Nhiệt độ tủ lạnh (2 °C - 8 °C): đến một tuần

Làm đông (-10 °C đến - 20 °C): đến một năm

- Xử lý mẫu: Hòa loãng tất cả mẫu tinh dịch với dung dịch đệm theo tỉ lệ 1 : 5. Kết quả nhân với hệ số pha loãng.

Ví dụ: hòa loãng 100  $\mu$ l tinh dịch với 400  $\mu$ l dung dịch đệm

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

##### **2.1. Chuẩn bị thuốc thử**

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

##### **2.1.1. Dung dịch rửa:**

Hòa 50 ml dung dịch rửa với 450 ml nước cất để được dung dịch 500 ml.

Sau khi pha, ổn định 4 tuần ở 4 °C - 8 °C

##### **2.1.2. Chuẩn:** 4 lọ (0,5 ml)

- Nồng độ chuẩn S1 – S4 lần lượt như sau: 31 U/mL; 62 U/mL; 125 U/mL; 250 U/mL. S0 là dung dịch đệm (0 U/mL)

- Sẵn sàng sử dụng

##### **2.1.4. Control:** 2 mức

Sẵn sàng sử dụng

## 2.2. Tiến hành

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian hoàn thành xét nghiệm khoảng 180 phút
- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

- + Hút 50  $\mu$ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu tinh dịch đã xử lý vào các giếng tương ứng.
- + Ủ 60 phút ở 37° C.
- + Rửa sạch các giếng 3 lần với 200  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 50  $\mu$ l enzym liên hợp vào từng giếng.
- + Ủ 60 phút ở 37° C.
- + Rửa sạch các giếng 3 lần với 200  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 50  $\mu$ l cơ chất vào mỗi giếng.
- + Ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng.
- + Hút 50  $\mu$ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng.
- + Tiến hành đo trong 10 phút.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham khảo: 0 - 60 U/mL

Giá trị tăng: > 60 U/mL

Trong trường hợp một giá trị trong phạm vi gần cut-off (55 đến 65 U/mL) thì khuyến cáo lấy mẫu sau 2 tuần để làm lại.

- Ý nghĩa lâm sàng: Định lượng kháng thể kháng tinh trùng có giá trị trong chẩn đoán một phần nguyên nhân vô sinh: Đàn ông có hơn 50% tinh trùng có kháng thể kháng tinh trùng cho thấy rõ ràng giảm tỉ lệ khả năng sinh sản.

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Tinh dịch phải là mới vừa xuất tinh
- Ở nhiệt độ cao hơn 30° C → mẫu phải được vận chuyển để làm mát hoặc làm đông.
- Mẫu có kết quả vượt quá 250 U/mL thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch S0.
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

## **147. ĐỊNH LƯỢNG T3 (Tri iodothyronine)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

T3 là hormon tuyến giáp. Xét nghiệm T3 thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp...

T3 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên T3 trong mẫu thử được giải phóng khỏi protein gắn kết trong mẫu bởi ANS. T3 và kháng thể đặc hiệu kháng T3 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho tiếp xúc với nhau.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và T3 đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên kháng thể đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ T3 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ T3 có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm T3, chất chuẩn T3, chất kiểm tra chất lượng T3.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm,

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH<sub>4</sub>-Heparin và K<sub>3</sub>-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 rẽ đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm T3. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm T3. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm T3 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

-Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 1.3 - 3.1 nmol/l

- T3 máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp

- T3 máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên. Suy giáp.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 35 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 2.0 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1800 mg/dl.

+ Biotin <20 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF <1500 IU/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **148. ĐỊNH LƯỢNG T4 (Thyroxine)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

T4 là hormon tuyến giáp. Xét nghiệm T4 thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp...

T4 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên T4 trong mẫu thử được giải phóng khỏi protein gắn kết trong mẫu bởi ANS. T4 và kháng thể đặc hiệu kháng T4 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho tiếp xúc với nhau.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và T4 đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên kháng thể đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ T4 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ T4 có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm T4, chất chuẩn T4, chất kiểm tra chất lượng T4.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na-Heparin và K3-EDTA và Sodium Citrat (nếu dùng Sodium Citrat kết quả +10%). Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C.



- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm T4. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm T4. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm T4 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 66 – 181 nmol/l

- T4 máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp

- T4 máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên, Suy giáp.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 37 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 2.3 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2500 mg/dl.

+ Biotin < 100 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF < 2400 IU/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **149. ĐỊNH LƯỢNG sTfR**

**( Soluble transferin receptor - Thụ thể Transferin hòa tan)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

sTfR (soluble Transferin receptor) là thụ thể của transferin ở dạng hòa tan. sTfR là một protein dimer bao gồm hai tiểu đơn vị giống hệt nhau liên kết với nhau bởi cầu nối disulfide, nó có trọng lượng phân tử 190.000 Dalton. Xét nghiệm này thường được chỉ định trong bệnh thiếu máu do thiếu sắt.

Receptor Transferin ở dạng hòa tan (sTfR) trong máu của người bệnh được xác định theo phương pháp miễn dịch đo độ đục.

Kháng thể kháng sTfR trong thuốc thử kết hợp với sTfR trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ sTfR có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Hitachi 904, 912, MODULAR P...
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm sTfR, chất chuẩn sTfR, chất kiểm tra chất lượng sTfR.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Heparin . Máu không vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 3 ngày ở 15°C đến 25°C, 4 tuần ở -15°C đến -25°C.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm sTfR. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm sTfR. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm sTfR đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường:

Nam (18 – 60 tuổi): 2.2 - 5.0 mg/L

Nữ (18 – 45 tuổi): 1.9 – 4.4 mg/L

sTfR được xét nghiệm để chẩn đoán và theo dõi thiếu máu do thiếu sắt. Trong trạng thái bệnh lý này nồng độ sTfR trong máu tăng.

## **V. NHỮNG SAI SỐT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi:

+ Huyết thanh vàng : Bilirubin <1026  $\mu$ mol/L

+ Huyết thanh đục: Triglycerid < 1000 mg/dL

+ Vỡ hồng cầu: Hb <1000 mg/dL

+ Yếu tố thấp < 750 IU/mL

+ Không có hiệu ứng nồng độ cao khi sTfR < 80 mg/L

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **150. ĐỊNH LƯỢNG TACROLIMUS**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Tacrolimus là thuốc ức chế miễn dịch chống thải ghép ở người bệnh ghép tạng

Tacrolimus trong máu toàn phần được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh một bước sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Tacrolimus là xét nghiệm miễn dịch chậm một bước để định lượng tacrolimus trong máu toàn phần: Trước khi thực hiện định lượng trên máy, bước tiền xử lý thủ công được thực hiện với mẫu máu toàn phần được chiết tách với thuốc thử kết tủa và ly tâm. Chất nổi bề mặt được đem đi phân tích trên máy.

Mẫu đã qua tiền xử lý, dung dịch pha loãng thuốc thử và vi hạt thuận từ phủ anti-tacrolimus được kết hợp lại để tạo hỗn hợp phản ứng. Tacrolimus có trong mẫu thử gắn với các vi hạt phủ anti-tacrolimus. Sau khi làm chậm lại, chất kết hợp tacrolimus có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được thêm vào hỗn hợp phản ứng. Chất kết hợp tacrolimus có đánh dấu acridinium cạnh tranh với các điểm chưa kết nối trên vi hạt. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng tacrolimus trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.

+ Hóa chất: Hóa chất tiền xử lý và tách chiết Tacrolimus. Hóa chất xét nghiệm Tacrolimus, chất chuẩn Tacrolimus, chất kiểm tra chất lượng Tacrolimus.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Tùy theo yêu cầu mà có thể lấy máu định lượng Tacrolimus ở những thời điểm khác nhau.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Chỉ sử dụng mẫu máu toàn phần thu thập trong ống EDTA cho xét nghiệm Tacrolimus. Phải ghi rõ thời điểm lấy mẫu và lần cuối sử dụng Tacrolimus lên ống đựng mẫu.
- Các chất chống đông dạng lỏng có thể có làm loãng bệnh phẩm dẫn đến giảm nồng độ Tacrolimus của người bệnh.
- Bệnh phẩm ổn định đến 7 ngày ở nhiệt độ 2-8°C. Nếu xét nghiệm được thực hiện sau hơn 7 ngày cần bảo quản đông lạnh (-10°C hoặc lạnh hơn). Mẫu bệnh phẩm bảo quản đông lạnh có thể lưu giữ trên 90% trong 6 tháng nhưng mất 46% trong 9 tháng. Không bảo quản mẫu đã tiền xử lý.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải trộn kỹ trước khi tiền xử lý.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Tacrolimus. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Tacrolimus đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Xét nghiệm Tacrolimus yêu cầu phải thực hiện bước tiền xử lý bệnh phẩm bằng tay theo quy trình sau:

**Bước 1:** Lắc đều mẫu (mẫu bệnh phẩm, control, Calibrator) bằng cách nhẹ nhàng lộn các ống 5-10 lần.

**Bước 2:** Hút chính xác 200 µl mỗi mẫu vào ống ly tâm ngay sau khi lắc mẫu. Dùng mỗi ống cho 1 mẫu.

Ghi chú: Dùng đầu pipette mới cho mẫu mới, không lau đầu tip, không hút quá.

**Bước 3:** Hút chính xác 200 µl dung dịch Architect Tacrolimus whole blood reagent từ lọ nhỏ có nhãn màu xanh vào mỗi ống ly tâm chứa mẫu. Giọt cuối cùng chạm vào thành ống. Loại bỏ hết bọt khí.

**Bước 4:** Đậy nắp ống ly tâm và vortex trong khoảng 5-10s. Cần xem lại bằng mắt thường để chắc chắn mẫu và các dung dịch xử lý được trộn đều và đồng nhất.

**Bước 5:** Đặt các ống vào máy ly tâm, chú ý để cân bằng trong máy ly tâm. Ly tâm ống trong vòng 4 phút, tốc độ 13 000 vòng/phút

**Bước 6:** Lấy ống ra khỏi máy ly tâm, kiểm tra sự có mặt của các chất lắng dưới đáy và dung dịch trong nổi phía trên

**Bước 7:** Mở nắp ống và gạt chất lỏng phía trên vào ống Transplant pretreatment khi máy Architect đã sẵn sàng để chạy mẫu. Không dùng pipet hút phần dịch nổi phía trên để chắc chắn không đựng phần lắng dưới đáy. Lưu ý: Chỉ có ống Transplant Pretreatment (LN 1P06-01) được chấp nhận với mẫu Tacrolimus xử lý để chạy trên hệ

thống Architect iSystem. Các kết quả có thể bị ảnh hưởng nếu không dùng ống Transplant Pretreatment. Vortex ống Transplant pretreatment trong 5-10 giây

**Bước 8:** Chuyển ống vào khay chứa mẫu của Architect.

Sau khi thực hiện xong bước tiền xử lý, tiếp tục thực hiện như sau

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vừa thực hiện xong bước tiền xử lý vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

Lưu ý: Xét nghiệm Tarcrolimus nếu muốn làm lại phải thực hiện từ bước tiền xử lý. Không sử dụng lại mẫu tiền xử lý đã phân tích xong để chạy lại xét nghiệm.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Không có giá trị bình thường cho xét nghiệm này vì nó phụ thuộc vào từng người bệnh, yêu cầu điều trị cũng như thời gian lấy mẫu.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Nhiều thuốc điều trị có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm Tarcrolimus. Khắc phục: Bác sỹ điều trị cần nắm rõ những cảnh báo về các thuốc điều trị và nồng độ của nó ảnh hưởng thế nào đến kết quả xét nghiệm Tarcrolimus trong khi đánh giá kết quả xét nghiệm.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm ít bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 40 mg/dL .
- + Protein toàn phần: <12g/dL
- + Acid Uric <20 mg/dL
- + Huyết thanh đục: Triglycerid < 800 mg/dl.
- + Hematocrit: <25% hay >55%

## 151. ĐỊNH LƯỢNG TESTOSTERONE

### I. NGUYÊN LÝ

Testosterone có trọng lượng phân tử khoảng 288 dalton, được tổng hợp phần lớn bởi tế bào Leydig của tinh hoàn. Nồng độ testosterone được điều chỉnh bởi hormone LH của tuyến yên và có tác dụng feedback lên tuyến yên và vùng dưới đồi. Nó có vai trò duy trì tính dục nam, duy trì chức năng tuyến tiền liệt và tinh trùng. Ở nữ, một lượng nhỏ testosterone được hình thành ở buồng trứng và không có vai trò đặc biệt. Tăng nồng độ testosterone ở nữ có thể gây ra hiện tượng nam tính. Testosterone được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Testosterone trong mẫu thử đóng cạnh tranh với dẫn xuất testosterone trong thuốc thử đánh dấu bằng chất ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ nghịch với nồng độ testosterone có trong mẫu thử.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch E411, e170, e601, Architect ...
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-8°C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích

Các loại dung dịch hệ thống khác

- Chuẩn
- Control: ba mức
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

**3. Người bệnh:** được giải thích trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng

**4. Phiếu xét nghiệm:** có đầy đủ thông tin về người bệnh bao gồm tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có) ...

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Lấy bệnh phẩm:** bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hoặc EDTA. Bảo quản ở 2-8°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°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.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Bình thường: Nam: 9 - 27.8 nmol/l

Nữ: 0.22 - 2.9 nmol/l

- Testosteron tăng trong:

- + Ưu năng tinh hoàn.
- + Bệnh nam hóa...

- Testosteron máu giảm trong:

- + Thiếu năng tinh hoàn.
- + Thiếu năng vùng dưới đồi yên.
- + Stress

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

| Nguyên nhân                                                                                              | Sai sót                                | Xử trí                                                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Bệnh phẩm có nồng độ bilirubin > 513 $\mu\text{mol/L}$ , huyết tán, tăng lipid máu, đang sử dụng biotin. | Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm | Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc rồi định lượng lại. |
| Người bệnh đang điều trị Nandrolone, người bệnh nữ suy thận giai đoạn cuối.                              | Sai lệch kết quả                       | Ngừng dùng thuốc, kết quả chỉ có ý nghĩa tham khảo.                   |
| Nồng độ > dải đo (0,047 – 470 ng/mL).                                                                    | Sai lệch kết quả                       | Pha loãng bệnh phẩm.                                                  |



## 152. ĐỊNH LƯỢNG TGF- $\beta$ 1 (Transforming Growth Factor $\beta$ 1)

TGF- $\beta$ 1 là một polypeptid chứa 390 axit amin. Yếu tố chuyển đổi tăng trưởng  $\beta$ 1, được sản xuất bởi nhiều tế bào và các loại mô, ví dụ như tiểu cầu, mô xương, nhau thai và thận. Điều chỉnh sự phát triển phôi thai, hình thành xương, phát triển vú, chữa lành vết thương, tạo máu. Đối với hệ thống miễn dịch, TGF- $\beta$ 1 ức chế tăng sinh tế bào T, tế bào B và như là một phân tử kháng viêm. TGF- $\beta$ 1 ngăn cản sự hình thành và hoạt hóa đại thực bào, ức chế hoạt động của các tế bào diệt tự nhiên, tế bào diệt kích hoạt lymphokin và sản xuất các cytokin.

### I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng TGF- $\beta$ 1 trong huyết tương, huyết thanh và phân nổi nuôi cấy tế bào.

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên-kháng thể theo phương pháp sandwich: trước khi làm xét nghiệm, standard và mẫu người bệnh được hòa loãng với dung dịch đệm, axit hóa với HCl, rồi trung hòa với NaOH. Sau đó, các mẫu được ủ trong các giếng đã được phủ với kháng thể đa dòng TGF- $\beta$ 1. Sau khi rửa sạch các thành phần không kết hợp, kháng huyết thanh (kháng thể đơn dòng chuột), rồi Enzym liên hợp (kháng thể IgG chuột liên hợp biotin), phức hợp enzym (Streptavidin Peroxidase) lần lượt được thêm vào rồi được ủ. Một phức hợp sandwich enzym miễn dịch được hình thành. Sau khi rửa đi các thành phần không kết hợp, thêm cơ chất rồi dung dịch ngừng phản ứng vào. Cường độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ total TGF- $\beta$ 1 trong mẫu, được đo ở bước sóng 450 nm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng DRG, Đức (EIA-1864)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Enzym liên hợp
- + Chuẩn: 1 lọ
- + Cơ chất
- + Dung dịch đệm
- + Dung dịch rửa

- + HCL 1 N
- + Dung dịch ngừng phản ứng
- + NaOH 1 N
- + Kháng huyết thanh
- + Phức hợp enzym
- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
- + Pipet chính xác
- + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một
- + Nước cất
- + Giấy chỉ thị màu
- + Control mức thấp và cao

### **3. Người bệnh**

- Người bệnh không cần nhịn đói và không có yêu cầu gì đặc biệt khác
- Một số đối tượng mà BS thường chỉ định xét nghiệm này: người bệnh suy thận mạn, suy thận cấp, người bệnh ghép thận...

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

## **III. Các bước tiến hành**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Thu thập mẫu

Sử dụng huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, citrate hoặc chất nổi trong nuôi cấy tế bào

- + Huyết thanh: để co cục máu, ly tâm ở nhiệt độ phòng
- + Huyết tương: ly tâm ngay sau khi thu thập

Mẫu được tách tube và ổn định ở 2 - 8° C trong 24 giờ, lâu hơn thì làm đông ở -20° C. Lắc đều mẫu sau khi rã đông.

- Xử lý mẫu
- + Huyết thanh và huyết tương

Hòa loãng mẫu với dung dịch đệm theo tỉ lệ 1:50 (ví dụ: 10  $\mu$ l mẫu + 490  $\mu$ l dung dịch đệm )

+ Mẫu tế bào nuôi cấy

Ly tâm mẫu, hòa loãng mẫu với dung dịch đệm theo tỉ lệ 1:10 (ví dụ: 10  $\mu$ l mẫu + 90  $\mu$ l dung dịch đệm).

- Axit hóa và trung hòa mẫu và chuẩn:

+ Thêm 200  $\mu$ l chuẩn hoặc mẫu đã hòa loãng vào tube phản ứng.

+ Thêm 20  $\mu$ l HCl 1N vào

+ Đậy nắp, trộn đều và để trong 15 phút

+ Thêm 20  $\mu$ l NaOH 1N để trung hòa, trộn đều.

+ Sau khi trung hòa, các mẫu nên có giá trị pH từ 7 và 8. Vì vậy hãy kiểm tra giá trị pH với giấy chỉ thị màu.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

### **2.1. Chuẩn bị thuốc thử**

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

#### *2.1.1. Dung dịch rửa:*

Hòa 30 ml dung dịch rửa với 1170 ml nước cất để được dung dịch 1200 ml.

Sau khi pha, ổn định 2 tuần ở nhiệt độ phòng.

#### *2.1.2. Chuẩn:*

- Lọ chuẩn gốc A có nồng độ 600 pg/mL.

- Pha loãng nhiều lần với dung dịch đệm để được chuẩn B,C,D,E,F với các nồng độ tương ứng là 300 pg/mL; 150 pg/mL; 75 pg/mL; 38 pg/mL; 19 pg/mL và G là dung dịch đệm (0 pg/mL).

- Ổn định 1 tuần khi bảo quản ở 2- 8° C, lâu hơn khi làm đông ở -20° C.

### **2.2. Tiến hành**

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.

- Tổng thời gian làm xét nghiệm này khoảng 1275 phút (gần 21 giờ) nếu ủ ở 4° C và khoảng 555 phút (gần 9 giờ) nếu ủ ở nhiệt độ phòng.

- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

Các bước tiến hành như sau:

+ Hút 100  $\mu$ l mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng.

- + Phủ giấy kín và ủ qua đêm (8 - 16 giờ) ở 4° C. Hoặc ủ 3 giờ ở nhiệt độ phòng.
- + Lấy giấy phủ ra, loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 100  $\mu$ l kháng huyết thanh vào mỗi giếng.
- + Ủ 120 phút ở nhiệt độ phòng.
- + Loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 100  $\mu$ l enzym liên hợp vào mỗi giếng.
- + Ủ 45 phút ở nhiệt độ phòng.
- + Loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa.
- + Hút 100  $\mu$ l phức hợp enzym vào mỗi giếng.
- + Ủ 45 phút ở nhiệt độ phòng
- + Loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100  $\mu$ l cơ chất vào mỗi giếng
- + Ủ 15 phút ở nhiệt độ phòng
- + Hút 50  $\mu$ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng, trộn đều.
- + Tiến hành đo với bước sóng 450 nm trong 10 phút.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham khảo: < 25000 pg/mL (25 ng/mL).
- Mỗi phòng thí nghiệm nên xác định các giá trị riêng.
- Ý nghĩa lâm sàng: TGF- $\beta$ 1 tăng trong ung thư, suy thận mạn, suy thận cấp...

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống → lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.

## 153. ĐỊNH LƯỢNG TGF- $\beta$ 2 (Transforming Growth Factor $\beta$ 2)

TGF- $\beta$ 2 là một polypeptid chứa 412 axit amin. Yếu tố chuyển đổi tăng trưởng  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) được sản xuất bởi nhiều tế bào và các loại mô, ví dụ tiểu cầu, mô xương, nhau thai và thận. Tuy nhiên, TGF- $\beta$ 2 không được sản xuất bởi các tiểu cầu, trái với TGF- $\beta$ 1. Nó điều chỉnh sự phát triển phôi thai, hình thành xương, phát triển vú, chữa lành vết thương, tạo máu. TGF- $\beta$ 2 đã được chứng minh là một yếu tố ức chế sự tăng trưởng mạnh trong điều hòa tế bào thần kinh tiểu não và tăng sinh nguyên bào thần kinh tiểu não sau sinh. TGF- $\beta$ 2 còn được phát hiện trong dịch nước mắt.

### I. NGUYÊN LÝ

Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng TGF- $\beta$ 2 trong huyết tương, huyết thanh và phần nổi nuôi cấy tế bào.

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên - kháng thể theo phương pháp sandwich: trước khi làm xét nghiệm, standard và mẫu người bệnh được hòa loãng với dung dịch đệm, axit hóa với HCl, rồi trung hòa với NaOH. Sau đó, các mẫu được ủ trong các giếng đã được phủ với kháng thể đa dòng TGF- $\beta$ 2. Sau khi rửa sạch các thành phần không kết hợp, Enzym liên hợp (kháng thể IgG chuột liên hợp biotin), phức hợp enzym (Streptavidin Peroxidase) lần lượt được thêm vào rồi được ủ. Một phức hợp sandwich enzym miễn dịch được hình thành. Sau khi rửa đi các thành phần không kết hợp, thêm cơ chất rồi dung dịch ngừng phản ứng vào. Độ đậm màu tỉ lệ thuận với nồng độ TGF- $\beta$ 2 trong mẫu, được đo ở bước sóng 450 nm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ, cử nhân, kỹ thuật viên được đào tạo với máy Evolis Twin Plus

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích ELISA (có thể Evolis Twin Plus)
- Thuốc thử được cung cấp của hãng DGR, Đức (EIA-2396)
- + Đĩa phản ứng (96 giếng)
- + Enzym liên hợp
- + Chuẩn: 1 lọ
- + Cơ chất
- + Dung dịch đệm
- + Dung dịch rửa
- + HCL 1 N

- + Dung dịch ngừng phản ứng
- + NaOH 1 N
- + Phức hợp enzym
- Thuốc thử và dụng cụ cần nhưng không được cung cấp
- + Pipet chính xác
- + Các tube
- + Đầu côn pipet dùng một lần
- + Nước cất
- + Giấy chỉ thị màu
- + Control 2 mức thấp và cao

### **3. Người bệnh**

Người bệnh không cần nhịn đói và không có yêu cầu gì đặc biệt khác

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm theo mẫu bệnh viện và Bộ Y tế quy định, có ghi đầy đủ thông tin người bệnh.

## **III. Các bước tiến hành**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Thu thập mẫu

Sử dụng huyết thanh, huyết tương chống đông bằng EDTA, citrate hoặc chất nổi trong nuôi cấy tế bào

- + Huyết thanh: để co cục máu, ly tâm ở nhiệt độ phòng
- + Huyết tương: ly tâm ngay sau khi thu thập

Mẫu được tách tube và ổn định ở 2 – 8° C trong 24 giờ, lâu hơn thì làm đông ở -20° C. Mẫu sau khi đã đông nên vortex trước khi làm.

- Xử lý mẫu

- + Huyết thanh và huyết tương

Hòa loãng mẫu với dung dịch đệm theo tỉ lệ 1:50 (ví dụ: 10  $\mu$ l mẫu + 490  $\mu$ l dung dịch đệm).

- + Mẫu tế bào nuôi cấy

Ly tâm mẫu, hòa loãng mẫu với dung dịch đệm theo tỉ lệ 1:10 (ví dụ: 10  $\mu$ l mẫu + 90  $\mu$ l dung dịch đệm).

- Axit hóa và trung hòa mẫu và chuẩn:
- + Thêm 200  $\mu\text{l}$  calibrator, control hoặc mẫu đã hòa loãng vào tube phản ứng.
- + Thêm 20  $\mu\text{l}$  HCl 1N vào
- + Đậy nắp, trộn đều và để trong 15 phút
- + Thêm 20  $\mu\text{l}$  NaOH 1N để trung hòa, trộn đều.
- + Sau khi trung hòa, các mẫu nên có giá trị pH từ 7 và 8. Vì vậy hãy kiểm tra giá trị pH với giấy chỉ thị màu.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

### **2.1. Chuẩn bị thuốc thử**

Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

#### **2.1.1. Dung dịch rửa:**

Hòa 30 ml dung dịch rửa với 1170 ml nước cất để được dung dịch 600 ml.

Sau khi pha, ổn định 2 tuần ở nhiệt độ phòng.

#### **2.1.2. Chuẩn:**

- Lọ chuẩn gốc A có nồng độ 1000 pg/mL
- Pha loãng nhiều lần với dung dịch đệm để được chuẩn B, C, D, E, F với các nồng độ lần lượt tương ứng là 500 pg/mL; 250 pg/mL; 125 pg/mL; 62,5 pg/mL; 31,25 pg/mL và G là dung dịch đệm (0 pg/mL)
- Ổn định 1 tuần khi bảo quản ở 2 – 8° C, lâu hơn khi làm đông ở - 20° C

### **2.2. Tiến hành**

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy tự động EVOLIS TWIN PLUS.
- Tổng thời gian làm xét nghiệm này khoảng 355 phút (gần 6 giờ)
- Vẽ đường cong chuẩn trước, control đạt thì tiến hành đo mẫu.

*Các bước tiến hành như sau:*

- + Hút 100  $\mu\text{l}$  mỗi calibrator, control hoặc mẫu người bệnh vào các giếng
- + Phủ giấy kín và ủ 3 giờ ở nhiệt độ phòng
- + Lấy giấy phủ ra, loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300  $\mu\text{l}$  dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100  $\mu\text{l}$  enzym liên hợp vào mỗi giếng
- + Ủ 120 phút ở nhiệt độ phòng

- + Loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100  $\mu$ l phức hợp enzym vào mỗi giếng
- + Ủ 20 phút ở nhiệt độ phòng
- + Loại bỏ các chất ra khỏi giếng, rửa các giếng 3 lần với 300  $\mu$ l dung dịch rửa cho mỗi giếng trong một lần rửa
- + Hút 100  $\mu$ l cơ chất vào mỗi giếng
- + Ủ 10 phút ở nhiệt độ phòng
- + Hút 50  $\mu$ l dung dịch ngừng phản ứng vào mỗi giếng, trộn đều
- + Tiến hành đo với bước sóng 450 nm trong khoảng 10 phút

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Mỗi phòng thí nghiệm nên xác định các giá trị riêng bình thường và bất thường của mình.
- Ý nghĩa lâm sàng: Nồng độ TGF- $\beta$ 2 tăng trong
  - + Thủy tinh thể của người bệnh có bệnh lý võng mạc đái tháo đường tăng sinh.
  - + Người bệnh có khối u ác tính.
  - + Tăng nhiều trong dịch não thất ở bệnh Parkinson.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Có một số sai sót thường gặp:

- Lấy sai ống  $\rightarrow$  lấy lại
- Tuyệt đối không sử dụng máu vỡ hồng cầu, máu đục, máu vàng
- Mẫu máu ở người bệnh có dùng thuốc chống đông thì thời gian co cục máu lâu hơn trước khi ly tâm (hơn 30 phút)
- Những sai sót do máy thì hỏi kỹ sư để xử trí.
- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.



## **154. ĐỊNH LƯỢNG TG (Thyroglobulin)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

TG là glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 660kD, bao gồm 2 chuỗi, 1 chuỗi có trọng lượng phân tử khoảng 300 kD và 1 chuỗi 330 kD liên kết với nhau bằng cầu nối disulfide. TG được các tế bào tuyến giáp tổng hợp và có vai trò trong quan trọng trong tổng hợp hormon tuyến giáp. Xét nghiệm TG thường được chỉ định trong Ung thư tuyến giáp một số bệnh về tuyến giáp như: viêm tuyến giáp...

TG được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. TG có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TG đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TG đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ TG có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, ....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm TG, chất chuẩn TG, chất kiểm tra chất lượng TG.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, người bệnh cần được chuẩn bị nhịn ăn ít nhất 10 h trước khi lấy máu, người bệnh tránh căng thẳng mất ngủ trước ngày lấy máu...

#### **3. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là NH<sub>4</sub>Li, Na-Heparin và K3-EDTA, Natri Citrat, Na fluoride, K Oxalate. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 24h ở 15-25 °C, 3 ngày ở 2–8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm TG. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm TG. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm TG đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 1.4 - 78.0 ng/ml

- TG máu tăng trong: Ung thư tuyến giáp, Một số bệnh về tuyến giáp như: viêm tuyến giáp, Basedow.

- TG máu giảm trong: Sự giảm nồng độ TG cũng có giá trị theo dõi hiệu quả của phương pháp điều trị, sự tăng trở lại của TG chứng tỏ có tái phát hoặc có di căn ở người bệnh ung thư giáp.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 36 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.9 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.

+ Biotin < 80 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF < 2500 IU/mL

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” khi nồng độ TG tới 120 000 ng/ml

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 155. ĐỊNH LƯỢNG THEOPHYLIN

### I. NGUYÊN LÝ

Theophyllin là thuốc chống co thắt phế quản dùng điều trị bệnh hen.

Theophyllin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Theophylline là xét nghiệm một bước để định lượng theophylline trong huyết thanh hoặc huyết tương người.

Bệnh phẩm, anti-theophylline phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp theophylline có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng. Anti-theophylline phủ trên vi hạt thuận từ gắn với theophylline có trong mẫu và theophylline có đánh dấu acridinium.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng theophylline trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Theophyllin, chất chuẩn Theophyllin, chất kiểm tra chất lượng Theophyllin.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na-Heparin và K3- EDTA, Sodium Citrat, Sodium Fluorid, Potassium Oxalat. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8 ngày ở 2-8°C, 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Theophylin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Theophylin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Theophylin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Liều điều trị thường ở mức 10 - 20 µg/ mL. Ở trẻ em nồng độ điều trị thường ở mức 5 - 10 µg/mL.
- Với liều trên 20 µg/mL, gây ngộ độc với biểu hiện như: đau, buồn nôn, ỉa chảy. Liều cao hơn gây nôn mửa, xuất huyết dạ dày, rối loạn nhịp tim.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 20 mg/dL .
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.
  - + RF < 500 IU/mL
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **156. ĐỊNH LƯỢNG TRAb (TSH RECEPTOR ANTIBODIES)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

TRAb là kháng thể tự miễn kháng receptor của TSH, TRAb rất có giá trị trong chẩn đoán bệnh Basedow, nó có khả năng vận chuyển qua rau thai nên có thể truyền từ máu mẹ vào máu con. Do vậy trẻ có mẹ bị Basedow có thể mắc cường giáp bẩm sinh. xét nghiệm TRAb thường được chỉ định trong một số bệnh như: Basedow, Viêm tuyến giáp Hashimoto...

TRAb được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ điện hóa phát quang.

Đầu tiên: Bệnh phẩm được ủ với dung dịch đệm tiền xử lý (PT1) và thuốc thử tiền xử lý (PT2) chứa dạng tiền phức hợp miễn dịch của thụ thể TSH lợn hòa tan (pTSHR) và kháng thể đơn dòng từ chuột kháng thụ thể TSH lợn đánh dấu biotin. TRAb trong huyết thanh bệnh nhân tương tác với phức hợp thụ thể TSH.

Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và tự kháng thể đơn dòng kích thích tuyến giáp người (M22) đánh dấu phức hợp ruthenium, TRAb đã gắn kết được phát hiện dựa vào khả năng ức chế gắn kết của M22 đánh dấu. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin.

Hỗn hợp phản ứng được chuyển tới buồng đo, ở đó các vi hạt đối từ được bắt giữ lên bề mặt của điện cực. Những thành phần không gắn kết sẽ bị thải ra ngoài buồng đo bởi dung dịch ProCell. Cho điện áp vào điện cực sẽ tạo nên sự phát quang hóa học được đo bằng bộ khuếch đại quang tử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601...
- Hóa chất: Hóa chất tiền xử lý, Hóa chất xét nghiệm TRAb, chất chuẩn TRAb, chất kiểm tra chất lượng TRAb.
- + Lưu ý định lượng TRAb yêu cầu có thuốc thử tiền xử lý được cung cấp cùng hộp thuốc thử chính và phải được sử dụng như một bộ. Để tránh nhầm lẫn, ngay khi mở hộp thuốc thử cần đánh dấu thuốc thử chính với thuốc thử tiền xử lý bằng cùng ký hiệu để dễ xếp cặp. Chỉ nên đặt một cặp thuốc thử/thuốc thử tiền xử lý trên 1 máy.

Thuốc thử tiền xử lý được pha như sau:

Thêm chính xác 4 ml đệm tiền xử lý (PTB) và thuốc thử tiền xử lý đông khô (PTR).

Lắc nhẹ nhàng cho thuốc thử tan hết và hoàn nguyên trong 60 phút. Sau đó cho dung dịch này vào lọ thuốc thử PT2 (nắp trắng), thận trọng tránh tạo bọt.

### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông không sử dụng huyết tương cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 3 ngày ở 2°C-8, 1 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm TRAb. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm TRAb. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm TRAb đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ Trị số bình thường: <0,92 IU/l

+ TRAb tăng trong các bệnh như Viêm tuyến giáp tự miễn, Basedow

+ Xét nghiệm TRAb được chỉ định trong những trường hợp sau:

- Phát hiện hay loại trừ bệnh cường giáp tự miễn và phân biệt với bệnh tuyến giáp tự phát lan tỏa. Sự hiện diện của TRAb chỉ ra tình trạng nhiễm độc tuyến giáp là do nguyên nhân tự miễn hơn là do bướu hạt độc tuyến giáp. Vì đích điều trị bệnh Basedow có thể khác so với đích điều trị các dạng khác của nhiễm độc giáp nên việc phát hiện TRAb ngay từ đầu có giá trị rõ ràng.

- Theo dõi điều trị bệnh nhân bệnh Basedow và dự đoán tái phát, do đó đây là yếu tố hỗ trợ quan trọng có tính quyết định trong theo dõi điều trị. Nồng độ TRAb có xu hướng giảm khi dùng thuốc kháng giáp điều trị bệnh Basedow. Nồng độ thấp hay không phát hiện TRAb sau một đợt điều trị có thể cho thấy bệnh đã thuyên giảm và do đó có thể cân nhắc việc sử dụng thuốc cho hợp lý.

- Đo nồng độ TRAb trong ba tháng cuối của thai kỳ. Vì TRAb là kháng thể nhóm IgG, chúng có thể qua nhau thai và có thể gây bệnh tuyến giáp sơ sinh. Vì thế đo nồng độ kháng thể TRAb trong thai kỳ ở những bệnh nhân có bệnh sử bệnh tuyến giáp rất quan trọng để đánh giá nguy cơ bệnh tuyến giáp ở trẻ sơ sinh.

## **V.NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Lấy máu không đúng kỹ thuật gây vỡ hồng cầu. Khắc phục: Huấn luyện cán bộ có kỹ năng lấy máu 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).



## **157. ĐỊNH LƯỢNG TRANSFERIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Transferin là protein vận chuyển sắt của cơ thể. Xét nghiệm Transferin thường được chỉ định trong một số bệnh về máu, bệnh gan...

Transferin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng Transferin trong thuốc thử kết hợp với Transferin trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ Transferin có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Transferin, chất chuẩn Transferin, chất kiểm tra chất lượng Transferin.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH<sub>4</sub> Heparin. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8 ngày ở 15-25°C, 6 tháng ở (-15) - (-25)°C
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Transferin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Transferin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Transferin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 200 - 400 mg/dl
- Transferrin máu tăng trong: Viêm gan cấp, Đa hồng cầu, Uống thuốc ngừa thai, có thai.
- Transferrin giảm trong: Thiếu máu tan huyết, Thiếu máu thiếu sắt mạn.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

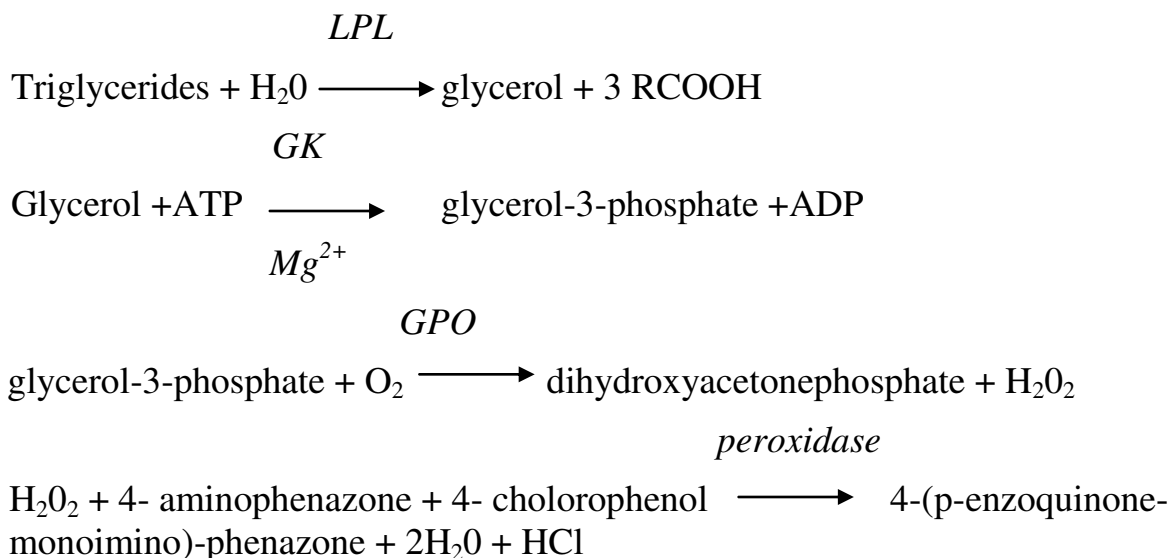
- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL .
- + Tán huyết: Hemoglobin < 1.0g / dL
- + RF < 1200 IU/mL
- + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ Transferin tới 1700 mg/dL
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 158. ĐỊNH LƯỢNG TRIGLYCERID

### I. NGUYÊN LÝ

Mục đích của xét nghiệm: Triglycerid thường được định lượng để giúp đánh giá tình trạng cân bằng giữa trọng lượng lipid đưa vào và chuyển hóa lipid trong cơ thể.

Định lượng Triglycerid trong máu của người bệnh theo phương pháp Enzym so màu theo phương trình phản ứng sau:



*LPL: Lipoprotein lipase*

*GK: Glycerol kinase*

*GPO: Glycerol phosphate oxidase*

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** 02 cán bộ là bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành Hóa sinh

**2. Phương tiện, hóa chất**

#### 2.1. Phương tiện

- Hệ thống máy phân tích hóa sinh của hãng Roche (MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000), hãng Olympus (AU 640, AU 2700, AU5800).

- Máy ly tâm

- Các ống xét nghiệm được chống đông bằng Li-Heparin hoặc EDTA hoặc không chống đông.

- Pipét tự động các loại 1000μl, 500 μl, 100μl, 50 μl và 10 μl.

- Đầu côn tương ứng các loại pipet tự động.
- Bông, côn, kim lấy máu, giá đựng bệnh phẩm.
- Bàn lấy máu.
- Găng tay

## **2.2 Hoá chất:**

- Hoá chất làm xét nghiệm Triglycerid của hãng ROCHE, OLYMPUS.
- Huyết thanh kiểm tra của BIO-RAD.

## **2.3. Bệnh phẩm**

- Máu toàn phần được lấy 3 ml vào ống chống đông bằng Li-Heparin, EDTA, hoặc ống không chống đông
- Ly tâm để tách huyết tương hoặc huyết thanh
- Mẫu bệnh phẩm cần được phân tích càng sớm càng tốt. Có thể bảo quản mẫu huyết thanh hoặc huyết tương 5- 7 ngày ở nhiệt độ 2-8<sup>0</sup>C và 3 tháng ở nhiệt độ (-15)-(-25)<sup>0</sup>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.
- Dụng cụ chuẩn: được làm khi bắt đầu triển khai xét nghiệm trên máy, khi thay đổi một trong các yếu tố: nồng độ chuẩn mới, thuốc thử mới, thay bóng đèn hay thay công phản ứng, và khi thấy kết quả kiểm tra chất lượng không đạt.
- Mẫu huyết thanh kiểm tra chất lượng, mẫu bệnh phẩm định lượng Triglycerid được phân tích trên máy phân tích sinh hoá tự động MODULAR, COBAS 6000, COBAS 8000 (hãng Roche), hoặc các máy AU 640, AU 2700, AU 5800 (hãng Minh Tâm) theo protocol của máy.
- Mẫu bệnh phẩm chỉ được chạy trên máy phân tích khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt được độ chính xác và xác thực trong giới hạn cho phép và không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được điền vào phiếu xét nghiệm, điền vào sổ lưu trữ hoặc được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu để in ra bằng máy.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: 0.46 – 1.88 mmol/l
- Nồng độ Triglycerid máu có thể tăng trong các nguyên nhân chính sau:
  - Tăng huyết áp
  - Đái tháo đường
  - Viêm tụy cấp
  - Xơ gan do rượu
  - Tăng lipoprotein máu có tính chất gia đình.
  - Bệnh thận.
  - Hội chứng thận hư
  - Suy giáp
  - Nhồi máu cơ tim
  - Bệnh gút.
  - Liên quan với chế độ ăn: Tỷ lệ protein thấp, tỷ lệ carbohydrat cao.
  - Bệnh lý kho dự trữ glycogen.
- Nồng độ Triglycerid máu có thể giảm trong các nguyên nhân chính sau:
  - Không có  $\beta$ -lipoprotein huyết bẩm sinh
  - Cường giáp.
  - Suy dinh dưỡng.
  - Do chế độ ăn: Tỷ lệ mỡ thấp.
  - Hội chứng giảm hấp thu.
  - Nhồi máu não
  - Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ SỬ TRÍ**

- Khi thấy kết quả Triglycerid bất thường (cao hơn hoặc thấp hơn giá trị bình thường) cần kiểm tra lại kết quả bằng cách:
  - + Kiểm tra lại thông tin ống máu, đối chiếu với thông tin trên phiếu yêu cầu xét nghiệm: họ tên người bệnh, tuổi, giường, khoa...
  - + Nhắc ống máu để kiểm tra xem có đông dây hoặc bất thường gì không?
  - + Đối chiếu kết quả với lời chẩn đoán

Nếu thấy không có gì bất thường, nên chạy lại kiểm tra lại lần nữa trên máy đó cùng phối hợp với mẫu huyết thanh kiểm tra hoặc chuyển sang máy khác.

- Các yếu tố góp phần làm thay đổi kết quả xét nghiệm:
  - + Các chất có thể làm tăng nồng độ triglycerid máu: Rượu, thuốc chẹn beta giao cảm, cholestyramin, corticosteroid, estrogen, thuốc ngừa thai uống, thuốc lợi tiểu thiazid.
  - + Các chất có thể làm giảm nồng độ triglycerid máu: Acid ascorbic, asparaginase, colestipol, clofibrat, dextronthyroxin, metformin, niacin.
  - + Có thai, hoặc người bệnh không nhịn ăn sẽ làm tăng nồng độ triglycerid máu.

## 159. ĐỊNH LƯỢNG TnT (TROPONIN T)

### I. NGUYÊN LÝ

Troponin là đơn vị điều hòa 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.

TnT được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. TnT có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TnT đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TnT đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ TnT có trong mẫu thử.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm TnT, chất chuẩn TnT, chất kiểm tra chất lượng TnT.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm, người bệnh cần được chuẩn bị nhịn ăn ít nhất 10 h trước khi lấy máu, người bệnh tránh căng thẳng mất ngủ trước ngày lấy máu...

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin, EDTA và Na Citrat. Không sử dụng chất chống đông Oxalat và Fluorid cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 24 ngày ở 2–8°C, 12 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm TnT. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm TnT. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm TnT đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường:  $<0,01$  ng/ml

- Troponin T tăng bệnh lý trong: Nhồi máu cơ tim, Viêm cơ tim, một số trường hợp không liên quan tới bệnh tim như Suy thận...

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin  $< 29$  mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin  $<0.1$  g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride  $< 1500$  mg/dl.

+ RF  $< 1500$  IU/mL

+ Biotin  $<50$  ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều  $> 5$  mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ TnT tới 400 ng/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).



## **160. ĐỊNH LƯỢNG hsTROPONIN T**

**( High sensitive troponin T – troponin độ nhạy cao)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Troponin là đơn vị điều hòa 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. hs TnT không phải là một loại TnT khác mà nó là Troponin độ nhạy cao được sử dụng phổ biến trên lâm sàng.

hsTnT được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. TnT có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TnT đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TnT đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ TnT có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170. e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm hsTnT, chất chuẩn hsTnT, chất kiểm tra chất lượng hsTnT.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Ngoài trường hợp cấp cứu, người bệnh không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin, EDTA và Na Citrat. Không sử dụng chất chống đông Oxalat và Fluorid cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ở 2-8°C, 12 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm hsTnT. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm hsTnT. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm hsTnT đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

hsTroponinT không phải là một loại Troponin khác mà nó là Troponin độ nhạy cao được sử dụng phổ biến trên lâm sàng. Các lý do để Troponin T trở thành hsTroponinT:

- + Tăng thể tích bệnh phẩm từ 15 µl đến 50 µl.
- + Sử dụng chất liên kết (kháng thể gắn Ru) được tối ưu hóa cao nhằm khuếch đại tín hiệu.
- + Giảm tín hiệu nền để tăng tỉ lệ tín hiệu/nhiều.
- + Giảm nhiễu gây nên bởi kháng thể dị nguyên (heterophic antibodies) bằng cách sử dụng kháng thể chuột-người (chimeric antibodies) thay vì kháng thể chuột đơn thuần (được sử dụng ở Troponin T Gen 4).

Bình thường hs-TnT <14ng/L.

Trong hội chứng vành cấp, căn cứ vào kết quả xét nghiệm TnT sẽ phân tầng nguy cơ như sau:

|                            |                                 |               |                                 |               |
|----------------------------|---------------------------------|---------------|---------------------------------|---------------|
| <14 ng/L                   | $\geq 14$ đến 52 ng/L           |               | $\geq 53$ ng/L                  |               |
| XN hs-TnT lại sau 6h       | XN hs-TnT lại sau 3giờ          |               | XN hs-TnT lại sau 3giờ          |               |
| <14 ng/L loại trừ NMCT     | Biến đổi <50%                   | Biến đổi >50% | Biến đổi <20%                   | Biến đổi >20% |
| >14 ng/L theo phác đồ giữa | Tiên lượng xấu. XN lại giờ 6,12 | NMCT          | Tiên lượng xấu. XN lại giờ 6,12 | NMCT          |

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL.
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 0.1 g/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.
  - + RF < 1500 IU/mL
  - + Biotin < 20 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
  - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ TnT tới 100000 ng/L
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 161. ĐỊNH LƯỢNG TnI (TROPONIN I)

### I. NGUYÊN LÝ

Troponin là đơn vị điều hòa 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.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm TnI, chất chuẩn TnI, chất kiểm tra chất lượng TnI.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin, EDTA. Không sử dụng chất chống đông Oxalat và Fluorid cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 giờ ở 20–25°C, 12 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm TnI. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm TnI. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm TnI đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham chiếu: <0,16 ng/ml

- Troponin I tăng bệnh lý trong: Nhồi máu cơ tim, Viêm cơ tim, ghép tim...

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 0.4 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ RF < 1500 IU/mL

+ Biotin < 30 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ TnI tới 1000 ng/mL.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 162. ĐỊNH LƯỢNG TSH (THYROID STIMULATING HORMONE)

### I. NGUYÊN LÝ

TSH (kích giáp trạng tố) là glycoprotein có trọng lượng phân tử 30 000 daltons bao gồm 2 tiểu đơn vị là chuỗi  $\beta$  và chuỗi  $\alpha$ . Chuỗi  $\beta$  mang thông tin sinh học của TSH, còn chuỗi  $\alpha$  giống với chuỗi  $\alpha$  của LH, FSH và hCG. TSH được tiết ra bởi tế bào ưa kiềm ở thùy trước tuyến yên và cũng có nhịp ngày đêm. Xét nghiệm TSH thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp...

TSH được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. TSH có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TSH đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng TSH đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ TSH có trong mẫu thử.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm TSH, chất chuẩn TSH, chất kiểm tra chất lượng TSH.

#### 4. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là  $\text{NH}_4\text{Li}$ , 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  $-20^\circ\text{C}$ .

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm TSH. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm TSH. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm TSH đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham chiếu: 0.27 - 4.2  $\mu$ 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  $\mu$ IU/ml.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **163. ĐỊNH LƯỢNG TOBRAMYCIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Tobramycin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn  $\beta$  galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Tobramycin nó tác động lên Tobramycin tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Tobramycin trong mẫu thử cạnh tranh với Tobramycin liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của  $\beta$  Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Tobramycin có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Tobramycin không có mặt trong mẫu thử. Tobramycin liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ  $\beta$  Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Tobramycin trong mẫu thử

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Tobramycin, chất chuẩn Tobramycin, chất kiểm tra chất lượng Tobramycin.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-heparin hoặc EDTA . Bệnh phẩm ổn định 1 tuần ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C.



- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Tobramycin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Tobramycin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Tobramycin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Nồng độ Tobramycin trong khoảng 6 -10  $\mu\text{g/mL}$  đủ đảm bảo hoạt tính kháng khuẩn.
- Quá nồng độ trên Tobramycin có thể gây độc cho thận và ảnh hưởng tới thính lực.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026  $\mu\text{mol/L}$ .
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1000 mg/dL.
  - + RF : < 1200 IU/mL
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả)

## **164. ĐỊNH LƯỢNG TOTAL P1NP**

### **( Total procollagen type 1 amino-terminal propeptid)**

Collagen típ 1 là loại collagen được ưu tiên tổng hợp trong xương, chiếm tỷ lệ hơn 90 % cấu trúc hữu cơ của xương. Collagen típ 1 có nguồn gốc từ procollagen típ 1 được tổng hợp bởi nguyên bào sợi và nguyên bào xương. Procollagen típ 1 có chứa nhóm tận cùng N-(amine) và C-(carboxy). Các nhóm này (propeptide) được loại bỏ nhờ các protease đặc hiệu trong quá trình chuyển hóa procollagen tạo thành collagen để sau đó xâm nhập vào tổ chức xương. Đoạn có nhóm amine tận cùng có tên là P1NP - típ 1 procollagen amino-terminal - propeptide. Do đó P1NP là chỉ số đặc hiệu đối với sự lắng đọng collagen típ 1 và vì vậy nó được xem là dấu ấn thật sự của tạo xương. P1NP được phóng thích trong quá trình tạo collagen típ 1 vào trong khoảng gian bào và cuối cùng vào máu. P1NP dường như được phóng thích dưới dạng cấu trúc tam phân (bắt nguồn từ cấu trúc tam phân của collagen) nhưng nó nhanh chóng bị giáng hóa thành dạng đơn phân do tác dụng thoái hóa bởi nhiệt. Xét nghiệm Elecsys P1NP phát hiện cả hai phân đoạn trong máu và do đó được gọi là P1NP toàn phần.

#### **I. NGUYÊN LÝ**

P1NP toàn phần được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. P1NP toàn phần có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng P1NP toàn phần đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng P1NP toàn phần đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ P1NP toàn phần có trong mẫu thử.

#### **II. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm P1NP toàn phần, chất chuẩn P1NP toàn phần, chất kiểm tra chất lượng P1NP toàn phần.

##### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin, K3-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ở 15- 25°C, 5 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm P1NP toàn phần. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm P1NP toàn phần. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm P1NP toàn phần đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Giá trị tham chiếu:

- Tiền mãn kinh : 15.13 – 58.59 ng/mL
- Mãn kinh: 16.27 – 73.87 ng/mL

Định lượng P1NP toàn phần để thăm dò quá trình tạo xương.

### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL .

- + Tán huyết: Hemoglobin <1.8 g/dl.
- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.
- + RF < 2490 IU/mL
- + Biotin <50 ng/mL trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
- + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ P1NP toàn phần tới 3900 ng/mL
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 165. ĐỊNH LƯỢNG T-UP TAKE

### I. NGUYÊN LÝ

Thyroxine (T4) là hormon có tác động trên chuyển hóa chung. Định lượng T4 quan trọng trong việc chẩn đoán phân biệt giữa bình giáp, cường giáp và nhược giáp. Phần lớn thyroxine gắn với protein vận chuyển (TBG, prealbumin và albumin), do vậy việc xác định thyroxine toàn phần chỉ cung cấp thông tin chính xác khi khả năng gắn kết thyroxine trong huyết thanh là bình thường. Nội tiết tố tuyến giáp tự do trong trạng thái cân bằng với nội tiết tố gắn với protein mang. Một thay đổi trong nồng độ TBG có thể dẫn tới nồng độ T4 toàn phần đo được tăng hoặc giảm mặc dù nồng độ T4 tự do vẫn nằm trong khoảng bình giáp. Xét nghiệm T-uptake (chỉ số gắn kết thyroxine) cung cấp một phép đo cho các vị trí gắn kết thyroxine còn trống.

T-uptake (Chỉ số gắn kết T4) được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng phương pháp miễn dịch hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên: Mẫu bệnh phẩm, T4 ngoại sinh, và T4-polyhapten đánh dấu biotin cho tiếp xúc với nhau. T4 chiếm giữ các vị trí gắn kết tự do trong mẫu huyết thanh.

Sau khi thêm kháng thể đặc hiệu kháng T4 đánh dấu phức hợp ruthenium, polyhapten và dẫn xuất kháng thể phản ứng với nhau tạo thành một phức hợp, nồng độ của phức hợp tỷ lệ nghịch với nồng độ của T4 ngoại sinh dư thừa. Phức hợp miễn dịch này trở nên gắn kết với vi hạt phủ streptavidin thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay.
- Hóa chất: Hóa chất định lượng T-uptake, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng T-uptake.
- Máy móc: Có thể sử dụng các máy như Cobas e411, e170, e601, Architect...

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông là Heparin, K3-EDTA, Natri Citrate, Kali Oxalat, Natri Floride.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hay huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 8 ngày ở 2-8°C, 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm ở 4000 vòng trong 5 phút tách lấy huyết thanh.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Sau khi tách được huyết thanh, bệnh phẩm được chuyển đến máy phân tích
- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm T-uptake. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm T-uptake. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm T-uptake đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Bình thường T-uptake: 0.8-1.3
- T-uptake <0.8 có thể cường giáp hay nồng độ TBG thấp.
- T-uptake >1.3 có thể suy giáp hay nồng độ TBG cao.

### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 41 mg/dL .

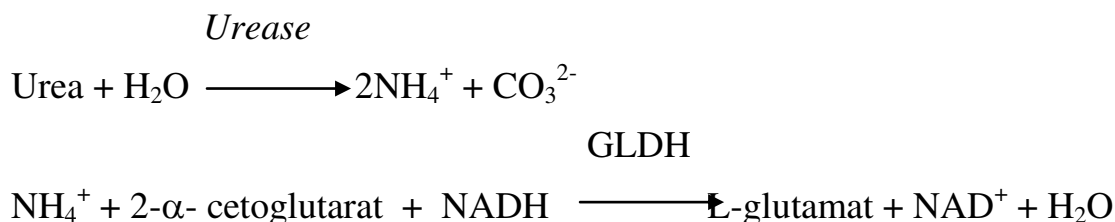
- + Tán huyết: Hemoglobin < 2.0 g/dL
- + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.
- + Biotin <40 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
- + RF <339 IU/mL
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 166. ĐỊNH LƯỢNG URE

### I. NGUYÊN LÝ

Ure là sản phẩm của quá trình chuyển hóa  $-\text{NH}_2$  từ chu trình ure ở gan. Ure được đào thải chủ yếu qua thận. Nồng độ ure phụ thuộc nhiều vào chế độ ăn

Ure máu được định lượng theo phương pháp động học:



### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** bác sỹ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành Hóa sinh

**2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy móc: hệ thống máy sinh hóa
- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng.

R 1: NaCl 9% ...

R 2: TRIS buffer, NADH, ADP, urease ...

Bảo quản ở 2-8°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 EDTA, 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<sup>0</sup>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        |

## 167. ĐỊNH LƯỢNG VALPROIC ACID

### I. NGUYÊN LÝ

Valproic Acid là thuốc hướng thần có tác dụng chống động kinh.

Valproic Acid được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Định lượng Valproic Acid là xét nghiệm một bước để định lượng valproic acid trong huyết thanh hoặc huyết.

Mẫu bệnh phẩm, anti-valproic acid phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp kháng thể kháng valproic acid có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang) được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng.

Anti-valproic acid phủ trên vi hạt thuận từ gắn với valproic acid có trong mẫu thử và chất kết hợp kháng thể kháng valproic acid có đánh dấu acridinium.

Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng valproic acid trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Valproic Acid, chất chuẩn Valproic Acid, chất kiểm tra chất lượng Valproic Acid.

**3. Người bệnh:** Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:** Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Sodium EDTA (dùng cho ống nhựa). Nếu lấy máu bằng ống thủy tinh, có thể dùng các chất chống đông Li, Na-Heparin và Na,K-EDTA. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 15 - 25°C, 8 ngày ở 2-8°C, bảo quản 3 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Valproic Acid. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Valproic Acid. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Valproic Acid đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Kết quả được xác định bằng các phương pháp khác nhau sẽ có nồng độ gây độc khác nhau. Do vậy không nên dùng các phương pháp khác nhau khi xét nghiệm cho 1 người bệnh.
- Liều điều trị thường có nồng độ ở mức 50 - 100 µg/mL. Tuy nhiên nồng độ này còn phụ thuộc vào từng cá thể.
- Nồng độ Valproic Acid cao gây ngộ độc chủ yếu ở dạ dày và ruột như buồn nôn, nôn và tiêu chảy.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 20 mg/dL .
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 3000 mg/dl.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 168. ĐỊNH LƯỢNG VANCOMYCIN

### I. NGUYÊN LÝ

Vancomycin là một kháng sinh có tác dụng diệt khuẩn bằng cách ức chế giai đoạn tổng hợp vỏ tế bào vi khuẩn ở giai đoạn sớm hơn các kháng sinh thuộc nhóm Beta-Lactam.

Vancomycin trong huyết thanh hoặc huyết tương được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang.

Là xét nghiệm một bước. Bệnh phẩm, anti-vancomycin phủ trên vi hạt thuận từ, và chất kết hợp vancomycin có đánh dấu acridinium được kết hợp để tạo hỗn hợp phản ứng. Anti-vancomycin phủ trên vi hạt thuận từ gắn với vancomycin có trong mẫu bệnh phẩm và vancomycin có đánh dấu acridinium (chất có khả năng phát quang). Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đương (RLU). Sự tương quan gián tiếp giữa lượng vancomycin trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm Architect.
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Vancomycin, chất chuẩn Vancomycin, chất kiểm tra chất lượng Vancomycin.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na-Heparin và K3-EDTA, Sodium Citrat, Sodium Fluorid, Potassium Oxalat. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 8 ngày ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Vancomycin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Vancomycin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Liều điều trị thường có nồng độ đỉnh ở mức 20-40 µg/ mL, nồng độ đáy thường ở mức 5-10 µg/mL. Tuy nhiên nồng độ Vancomycin cần thiết lập riêng cho từng người bệnh trên cơ sở đáp ứng cá thể cũng như sự nhạy cảm của vi khuẩn.
- Nồng độ Vancomycin ở mức 80-100 µg/mL, gây ngộ độc tai và thận. Nếu sử dụng kết hợp với Aminoglycoside, khả năng ngộ độc sẽ tăng lên.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 20 mg/dL .
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dl.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 2500 mg/dl.
  - + RF < 500 IU/mL
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## 169. ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN B12

Vitamin B12 là những hợp chất hữu cơ có nguyên tử cobalt ở trung tâm, với tên gọi là những cobalamin và có hoạt tính sinh học trên cơ thể người. Vitamin B12 tham gia phản ứng tổng hợp thymidylate, một thành phần trong phân tử ADN, cung cấp nguyên liệu để tổng hợp ADN, góp phần vào quá trình phân chia tế bào và trưởng thành tế bào trong cơ thể. Thiếu vitamin B12 có ảnh hưởng rõ rệt lên những dòng tế bào có sự phân bào nhiều như các tế bào máu, tế bào biểu mô (nhất là ở niêm mạc đường tiêu hóa). Ngoài ra, thiếu vitamin B12 gây suy thoái chất myelin, một chất béo và là thành phần quan trọng của tế bào thần kinh, gây ra những triệu chứng thần kinh. Định lượng Vitamin B12 thường được chỉ định trong các trường hợp bệnh lý như bệnh máu, bệnh thần kinh...

### I. NGUYÊN LÝ

Vitamin B12 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang.

Đầu tiên, mẫu thử được xử lý bằng thuốc thử tiền xử lý Vitamin B12 một B12 nội sinh. Tiếp theo kháng thể kháng Vitamin B12 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) gắn trên protein được cho vào mẫu đã qua tiền xử lý, phức hợp kháng nguyên Vitamin B12 và kháng thể kháng Vitamin B12 được thành lập, lượng phức hợp tạo ra tỉ lệ với nồng độ chất phân tích có trong mẫu.

Thêm vào các vi hạt phủ streptavidin và kháng nguyên Vitamin B12 đánh dấu biotin. Kháng nguyên này sẽ gắn cạnh tranh với kháng thể kháng Vitamin B12 (đánh dấu ruthenium) gắn trên protein. Phức hợp vitamin B12 (trong mẫu bệnh phẩm) - kháng thể kháng vitamin B12 gắn trên protein - kháng nguyên Vitamin B12 đánh dấu biotin được hình thành.

Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ Vitamin B12 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ Vitamin B12 có trong mẫu thử.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay

- Hóa chất: Hóa chất tiền xử lý Vitamin B12, Hóa chất định lượng Vitamin B12, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng Vitamin B12

- Máy móc: Có thể sử dụng các máy như Cobas e411, e170, e601. Architect...

### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống chống đông bằng Na, Li-heparin hay K3-EDTA.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Mẫu ổn định trong 2 ngày ở 2-8°C, 2 tháng ở -20 °C. Tránh ánh sáng. Độ ổn định của huyết thanh: 24 giờ ở 2-8°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Vitamin B12. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Vitamin B12. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Vitamin B12 đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Bình thường Vitamin B12 trong huyết thanh: 179-660 pmol/L

- Vitamin B12 tăng trong: Viêm gan do Virus, Bạch cầu tủy mạn, Đa hồng cầu

- Vitamin B12 giảm trong: Thường ít gặp giảm Vitamin B12 đơn độc: Thiếu máu ác tính, Rối loạn hấp thu, Thiếu máu hồng cầu to, Thiếu Vitamin B12 đặc trưng ở các tổn thương hệ TKTW, rối loạn chức phận neuron.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL .

+ Tán huyết: Hemoglobin < 1.0g / dL

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin < 50 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF < 1500 IU/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).



## **170. ĐỊNH LƯỢNG PIGF (Placenta Growth Factor)**

PIGF là một protein thuộc nhóm VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor - yếu tố tăng trưởng nội mô). Ở người có ít nhất bốn loại PIGF là PIGF-1, PIGF-2, PIGF-3 và PIGF-4. PIGF-1 là một protein dimer bao gồm hai monomer giống hệt nhau trong đó mỗi monomer chứa 131 acid amin. Hai monomer được liên kết với nhau bằng liên kết cộng hóa trị và cầu nối disulfide, khi được glycosyl hóa nó có trọng lượng phân tử 46 kDa. PIGF-2 có 170 acid amin bao gồm cả đoạn peptide tín hiệu 18 acid amin. PIGF-3 có 203 acid amin. PIGF-1 và PIGF-3 liên kết với VEGFR-1 (còn gọi là Flt-1) tạo phức hợp bám trên màng các tế bào nội mô mạch máu. PIGF-4 có 224 acid amin bao gồm các trình tự như PIGF-3, cộng với một vùng gắn kết heparin mà trước đây được cho là chỉ có trong PIGF-2.

PIGF ban đầu được cho là có nguồn gốc rau thai và được đặt tên là yếu tố tăng trưởng rau thai (Placenta Growth Factor - PIGF). Sau này, PIGF còn được thấy trong một số cơ quan khác như tim, phổi, tuyến giáp, cơ xương, và mô mỡ nhưng không có ở thận và tuyến tụy. PIGF có vai trò trong tăng tân tạo mạch máu.

Xét nghiệm PIGF (kết hợp với sFlt-1) được chỉ định trong chẩn đoán sớm và chẩn đoán phân biệt tiền sản giật.

### **I. NGUYÊN LÝ**

PIGF được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. PIGF có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PIGF đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PIGF đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ PIGF có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm PIGF, chất chuẩn PIGF, chất kiểm tra chất lượng PIGF.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không dùng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước khi lấy máu

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông do xét nghiệm này yêu cầu sử dụng huyết thanh.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh.
- Bệnh phẩm ổn định 8h ở 2–8°C, 4 tháng ở -20°C.
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm PIGF. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm PIGF. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm PIGF đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

PIGF thay đổi theo tuổi thai, giá trị tham chiếu như sau:

10 – 14 tuần: 29.4 – 62.8 – 183 pg/mL

15 – 19 tuần: 65.7 – 135 – 203 pg/mL

20 – 23 tuần: 125 – 265 – 541 pg/mL

24 -28 tuần: 130 – 412 – 1108 pg/mL

29 -33 tuần: 73.3 – 439 – 1108 pg/mL

34 – 36 tuần: 62.7 – 232 – 972 pg/mL

>37 tuần: 52.3 – 161 – 659 pg/mL

Khi làm xét nghiệm PlGF thường được làm cùng với sFlt-1 và tính tỷ số sFlt-1/PlGF. Bình thường tỷ số đó như sau:

10 – 14 tuần: 5.21 – 22.7 – 57.3

15 – 19 tuần: 4.32 – 12.6 – 26.9

20 – 23 tuần: 2.19- 6.08 – 14.8

24 -28 tuần: 1.01 – 3.8 – 16.9

29 -33 tuần: 0.945 – 4.03 – 86.4

34 – 36 tuần: 1.38 – 13.3 – 92.0

>37 tuần: 3.65 – 26.2 - 138

**Lưu ý:** Giá trị tham chiếu trên đây được đưa ra dựa trên những nghiên cứu ở thai phụ thuộc chủng tộc Âu – Mỹ. Giá trị này có thể thay đổi phụ thuộc vào chủng tộc, do vậy cần xây dựng giá trị tham chiếu riêng cho nơi áp dụng.

PlGF có thể sử dụng trong một số bệnh lý như tim mạch, ung thư. Song xét nghiệm PlGF trình bày trong quy trình này dành riêng cho tiền sản giật:

- Trong tiền sản giật, PlGF giảm từ ba tháng giữa thai kỳ nên được dùng để chẩn đoán sớm tiền sản giật kết hợp với sFlt-1 tăng và tỷ số sFlt-1/PlGF tăng.
- Dùng chẩn đoán phân biệt tiền sản giật trong trường hợp thai phụ mắc một số bệnh nội khoa như Tăng huyết áp, Hội chứng thận hư, Lupus ban đỏ hệ thống... trước khi mang thai mà các bệnh này có triệu chứng tương tự tiền sản giật.
- Dùng trong tiên lượng nguy cơ và quản lý tiền sản giật.

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng nhầm bệnh phẩm: Sử dụng huyết tương thay vì sử dụng huyết thanh. Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL hay 428  $\mu$ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin <0.5 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin <30 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ PlGF tới 100 000 pg/mL.

+ RF <600 IU/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## **171. ĐỊNH LƯỢNG sFlt-1 (Soluble FMS lyke tyrosinkinase - 1)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

sFlt-1 là một protein có vai trò đối kháng với PlGF (có vai trò tăng tân tạo mạch máu), do vậy nó làm giảm quá trình tân tạo mạch và được gọi dưới cái tên yếu tố kháng tân tạo mạch máu. Xét nghiệm sFlt-1 (kết hợp với PlGF) được chỉ định trong chẩn đoán sớm và chẩn đoán phân biệt tiền sản giật.

sFlt-1 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. sFlt-1 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng sFlt-1 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng sFlt-1 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ sFlt-1 có trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm sFlt-1, chất chuẩn sFlt-1, chất kiểm tra chất lượng sFlt-1.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm. Không sử dụng các thuốc có Biotin ít nhất 8 giờ trước lúc lấy máu.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông do xét nghiệm này yêu cầu sử dụng huyết thanh.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm phút tách lấy huyết thanh.
- Bệnh phẩm ổn định 3 giờ ở 18-25°C, 8 giờ ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm sFlt-1. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm sFlt-1. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm sFlt-1 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

sFlt-1 thay đổi theo tuổi thai, giá trị tham chiếu như sau:

10 – 14 tuần: 555 – 1445 - 2361 pg/mL

15 – 19 tuần: 470 – 1459 - 2785 pg/mL

20 – 23 tuần: 649- 1576 - 2944 pg/mL

24 -28 tuần: 630 – 1449 - 3890 pg/mL

29 -33 tuần: 707 – 1934 - 6688 pg/mL

34 – 36 tuần: 978 – 2972 - 9921 pg/mL

>37 tuần: 1671 – 4400 - 11324 pg/mL

Khi làm xét nghiệm, sFlt-1 thường được làm cùng với PIGF và tính tỷ số sFlt-1/PIGF. Bình thường tỷ số đó như sau:

10 – 14 tuần: 5.21 – 22.7 – 57.3

15 – 19 tuần: 4.32 – 12.6 – 26.9

20 – 23 tuần: 2.19- 6.08 – 14.8

24 -28 tuần: 1.01 – 3.8 – 16.9

29 -33 tuần: 0.945 – 4.03 – 86.4

34 – 36 tuần: 1.38 – 13.3 – 92.0

>37 tuần: 3.65 – 26.2 - 138

**Lưu ý:** Giá trị tham chiếu trên đây được đưa ra dựa trên những nghiên cứu ở thai phụ thuộc chủng tộc Âu - Mỹ. Giá trị này có thể thay đổi phụ thuộc vào chủng tộc, do vậy cần xây dựng giá trị tham chiếu riêng cho nơi áp dụng.

sFlt-1 có thể sử dụng trong một số bệnh lý như tim mạch, ung thư. Song xét nghiệm sFlt-1 trình bày trong quy trình này dành riêng cho tiền sản giật:

- Trong tiền sản giật, sFlt-1 tăng trước khi xuất hiện triệu chứng lâm sàng từ 5 - 8 tuần nên được dùng để chẩn đoán sớm tiền sản giật kết hợp với PlGF giảm và tỷ số sFlt1/PlGF tăng.
- Dùng chẩn đoán phân biệt tiền sản giật trong trường hợp thai phụ mắc một số bệnh nội khoa như Tăng huyết áp, Hội chứng thận hư, Lupus ban đỏ hệ thống... trước khi mang thai mà các bệnh này có triệu chứng tương tự tiền sản giật.
- Dùng trong tiên lượng nguy cơ và quản lý tiền sản giật.

## V.NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Sử dụng nhầm bệnh phẩm: Sử dụng huyết tương thay vì sử dụng huyết thanh. Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.
- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL hay 428  $\mu$ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin <0.5 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1400 mg/dl.

+ Biotin <30 ng/ml. trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ sFlt-1 tới 200 000 pg/mL.

+ RF <600 IU/mL

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

## B. NƯỚC TIỂU

### 172. ĐỊNH LƯỢNG CÁC CHẤT ĐIỆN GIẢI

#### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng các chất điện giải (Na, K, Clo) bằng phương pháp điện cực chọn lọc.

#### II. CHUẨN BỊ

##### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

##### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích sinh hóa
- Hóa chất:
  - + Điện cực chuẩn
  - + Điện cực Na, K, Clo.
  - + Hóa chất được bảo quản ở 25-30<sup>0</sup>C, hạn sử dụng theo ngày ghi trên hộp.

##### 3. Người bệnh

Nước tiểu; bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25- 30<sup>0</sup>C, ổn định trong vòng 2 ngày.

##### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

#### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

##### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

##### 2. Tiến hành kỹ thuật

###### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm NA, K, CLO.

###### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm Na, K, Clo theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn Na, K, Clo.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm NA, K, CLO. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng nước tiểu và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.



- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Giá trị tham chiếu**

- Na: 120-130 mmol/24h
- K: 35 – 120 mmol/24h
- Clo: 120-140 mmol/24h
- + Kali niệu tăng trong:
  - Dùng các hormone steroid
  - Hội chứng Cushing
  - Viêm thận mất kali
- + Kali niệu giảm trong
  - Các bệnh thận có sự giảm đào thải nước tiểu: viêm cầu thận cấp, suy thận giai đoạn cuối
  - Thiếu năng vỏ thượng thận...
- + Na niệu tăng trong:
  - Rối loạn cân bằng nước.
  - Thiếu năng thượng thận...
- + Na niệu giảm:
  - Xơ gan..
- + Clo niệu tăng trong:
  - Tổn thương ống niệu, mất muối do thận
  - Thiếu năng vỏ thượng thận, giảm sự hấp thu muối.
- + Clo máu giảm trong:
  - Mất nhiều mồ hôi.
  - Hội chứng Cushing, dùng các corticoid thượng thận.
  - Đái tháo nhạt

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

## **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

## **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 173. ĐỊNH TÍNH AMPHETAMIN

### I. NGUYÊN LÝ

Sắc ký miễn dịch cạnh tranh: amphetamin trong mẫu nước tiểu cạnh tranh với amphetamin ở những vị trí gắn kết kháng thể. Trong quá trình xét nghiệm, mẫu nước tiểu thâm lên trên dọc theo màng thấm kit thử nhờ mao dẫn. Amphetamin, nếu có mặt trong nước tiểu với nồng độ thấp hơn 300 ng/ml, sẽ không thể bão hòa các vị trí gắn kết của những phần tử phủ kháng thể trên kit thử. Những phần tử này sẽ bị giữ lại sau đó bởi liên hợp amphetamin bất động và hình thành vạch màu trên vùng kết quả. Vạch màu không được hình thành trên vùng kết quả nếu mức độ amphetamin trên 300 ng/ml vì nó bão hòa được tất cả các vị trí gắn kết của kháng thể kháng amphetamin. Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm, một vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (gọi là vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**Hóa chất:**

- Thanh thử amphetamin
- Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30°C, hạn sử dụng theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Nước tiểu; bảo quản ở 2 – 8°C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 – 30°C, ổn định trong vòng 2 ngày.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị thanh thử amphetamin.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu
- Đọc kết quả sau 5 phút:
  - + Dương tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C

- + Âm tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

**1. Giá trị bình thường:** Âm tính

**2. Dương tính:** sử dụng các loại thuốc có chứa amphetamin.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Nước tiêu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## **174. ĐỊNH LƯỢNG AMPHETAMIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Amphetamin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn  $\beta$  galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Amphetamin nó tác động lên Amphetamin tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Amphetamin trong mẫu cạnh tranh với Amphetamin liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của  $\beta$  Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Amphetamin có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Amphetamin không có mặt trong mẫu thử. Amphetamin liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ  $\beta$  Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Amphetamin trong mẫu thử

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Amphetamin, chất chuẩn Amphetamin, chất kiểm tra chất lượng Amphetamin.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Amphetamin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Amphetamin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Amphetamin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Xét nghiệm Amphetamin trong nước tiểu sử dụng cut-off là 500 ng/mL tùy lựa chọn so với mẫu nước tiểu âm tính.

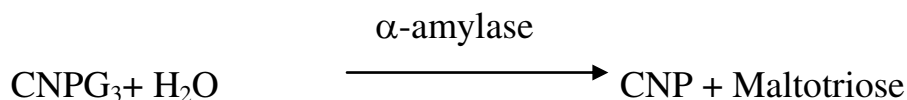
#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Aceton < 1g/dL
  - + Acid Ascorbic < 1.5 g/dL
  - + Ethanol < 1 mg/dL.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

## 175. ĐO HOẠT ĐỘ AMYLASE

### I. NGUYÊN LÝ

Hoạt độ của Amylase xác định theo phương pháp động học enzym.



CNPG<sub>3</sub> : 2-chloro-nitrophenyl- $\alpha$ -D-maltotrioside

CNP : 2-chloro-nitrophenol

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy AU

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích AU 400, AU 640...

- Hoá chất:

+ Hoá chất của hãng Olympus: Bảo quản tránh ánh sáng. Ổn định trong 90 ngày sau khi mở nắp và bảo quản trên máy. Hủy bỏ hóa chất khi có bất kỳ dấu hiệu mất màu nào.

+ Hoá chất của hãng Diasys : Bảo quản tránh ánh sáng. Ổn định trong 42 ngày sau khi mở nắp và bảo quản trên máy.

+ Huyết thanh kiểm tra chất lượng của Biorad

**3. Người bệnh:** Người bệnh đau bụng nghi ngờ viêm tụy hoặc sưng tuyến mang tai nghi ngờ quai bị

**4. Phiếu xét nghiệm:** Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu ngẫu nhiên: Ổn định trong 10 ngày ở 2-8°C, 2 ngày ở 15-25°C

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

Bệnh phẩm được phân tích trên máy AU 400 và AU 640

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

#### 1. Trị số bình thường

- Nước tiểu: 42-321 U/l

## **2. Amylase nước tiểu tăng trong**

- Các bệnh về tụy: viêm tụy cấp và mạn.

- Bệnh đường mật.

- Bệnh ổ bụng không phải bệnh tụy (loét thủng dạ dày và tắc ruột...)

- Quai bị, viêm tuyến nước bọt

## **V.NHỮNG SAI SỐT VÀ XỬ TRÍ.**

### ***Mẫu nước tiểu:***

- Nồng độ bilirubin 684  $\mu\text{mol/l}$  gây nhiễu dưới 10% kết quả

- Nồng độ haemoglobin 5 g/l gây nhiễu dưới 5% kết quả

- Nồng độ Vitamin C 50mg/dl gây nhiễu dưới 5% kết quả



## 176. ĐỊNH LƯỢNG AXIT URIC

### I. NGUYÊN LÝ

Đo quang enzyme so màu: acid uric chuyển thành allantoin và peroxide dưới tác dụng của uricase. Peroxide phản ứng với 3,5-dichloro-2-hydrobenzenesulfonic acid và 4-aminophenazone với sự có mặt của peroxidase tạo phức chất quinoneimine có màu tím đỏ. Mật độ quang được đo.

ở bước sóng 520/660 nm tỉ lệ với nồng độ acid uric trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

##### 2.2. Hóa chất

- Uricase
- 3,5-dichloro-2-hydrobenzenesulfonic
- 4-aminophenazone
- Peroxidase
- Chất bảo quản

Hóa chất được bảo quản ở 2 - 8°C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở 2 - 8°C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25-30°C, ổn định trong vòng 2 ngày.

Bệnh phẩm hòa loãng 1/5 với nước cất; kết quả thu được nhân với độ hòa loãng.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm acid uric.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm acid uric theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn acid uric.

- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm acid uric. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Giá trị tham chiếu: 1.2- 5.9 mmol/24giờ**

##### **2. Acid uric nước tiểu tăng trong**

- Bệnh đa hồng cầu Vaquez.
- Xạ trị.
- Bệnh bạch cầu.
- Viêm phổi.
- Dùng thuốc lợi niệu...

##### **3. Acid uric nước tiểu giảm trong**

- Suy thận.
- Điều trị bằng Allopurinol...

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 177. ĐỊNH LƯỢNG BARBITURATES

### I. NGUYÊN LÝ

Barbiturates được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn  $\beta$  galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Barbiturates nó tác động lên Barbiturates tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Barbiturates trong mẫu cạnh tranh với Barbiturates liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của  $\beta$  Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Barbiturates có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Barbiturates không có mặt trong mẫu thử. Barbiturates liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ  $\beta$  Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Barbiturates trong mẫu thử

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Barbiturates, chất chuẩn Barbiturates, chất kiểm tra chất lượng Barbiturates.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Barbiturates. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Barbiturates. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Barbiturates đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Xét nghiệm Barbiturates trong nước tiểu sử dụng cut-off là 200 hay 300 ng/mL tùy lựa chọn so với mẫu nước tiểu âm tính.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Aceton < 1g/dL
  - + Acid Ascorbic < 0.15 g/dL
  - + Ethanol < 1 mg/dL.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

## **178. ĐỊNH LƯỢNG BENZODIAZEPIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Benzodiazepin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn  $\beta$  galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Benzodiazepin nó tác động lên Benzodiazepin tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Benzodiazepin trong mẫu cạnh tranh với Benzodiazepin liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của  $\beta$  Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Benzodiazepin có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Benzodiazepin không có mặt trong mẫu thử. Benzodiazepin liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ  $\beta$  Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Benzodiazepin trong mẫu thử

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Benzodiazepin, chất chuẩn Benzodiazepin, chất kiểm tra chất lượng Benzodiazepin.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Benzodiazepin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Benzodiazepin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Benzodiazepin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Xét nghiệm Benzodiazepin trong nước tiểu sử dụng cut-off là 200 hay 300 ng/mL tùy lựa chọn so với mẫu nước tiểu âm tính.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Aceton < 1g/dL
  - + Acid Ascorbic < 0.15 g/dL
  - + Ethanol < 1 mg/dL.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

## 179. ĐỊNH TÍNH $\beta$ HCG

### I. NGUYÊN LÝ

Miễn dịch: Que thử có chứa một kháng thể đơn dòng kháng  $\beta$ HCG. Nếu mẫu có chứa  $\beta$ HCG sẽ tạo thành một phức hợp với kháng thể đơn dòng kháng  $\beta$ HCG (xuất hiện hai vạch phản ứng); nếu  $\beta$ HCG không có trong mẫu, hoặc một hàm lượng rất thấp, chỉ xuất hiện một vạch phản ứng.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**Hóa chất:**

- Thanh thử  $\beta$ HCG
- Hóa chất được bảo quản ở 25-30°C, hạn sử dụng theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

Nước tiểu; bảo quản ở 2-8°C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25- 30°C, ổn định trong vòng 2 ngày.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị thanh thử  $\beta$ HCG.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu
- Đọc kết quả sau 5 phút:
  - + Âm tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C
  - + Dương tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

#### 1. Giá trị tham chiếu: Âm tính

#### 2. Dương tính: có thai.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Trước phân tích**

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.



## 180. ĐỊNH LƯỢNG CALCI

### I. NGUYÊN LÝ

Đo quang so màu: ion  $\text{Ca}^{++}$  phản ứng với Arsenazo III tạo phức chất có màu tím. Mật độ quang được đo ở bước sóng 660/700 nm, tỉ lệ với nồng độ calci trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,...

##### 2.2. Hóa chất

- Imidazole (pH 6.5)
- Arsenazo III
- Triton X-100

Hóa chất được bảo quản ở  $2 - 8^{\circ}\text{C}$ . Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ.

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở  $2 - 8^{\circ}\text{C}$ , ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở  $25 - 30^{\circ}\text{C}$ , ổn định trong vòng 2 ngày.

Bệnh phẩm hòa loãng 1/5 với nước cất; kết quả thu được nhân với độ hòa loãng.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm calci.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm calci theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn calci.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm calci. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Trị số bình thường: 2.5 - 8.0 mmol/24giờ**

##### **2. Calci nước tiểu tăng trong**

- Cường cận giáp, Bệnh to cực.
- Loãng xương.
- Viêm thận mạn.
- Thừa Vitamin D
- Lao phổi, đa u tuỷ xương...

##### **3. Calci nước tiểu giảm trong**

- Nhược cận giáp, nhược giáp.
- Thiếu Vitamin D.
- Nhuyễn xương.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 181. ĐỊNH LƯỢNG CATECHOLAMIN

### I. NGUYÊN LÝ

Catecholamin trong nước tiểu được định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

Máy phân tích sắc ký lỏng cao áp.

Hóa chất:

- Internal standard
- Dilution Reagent
- Basic Reagent
- Acidic Reagent,
- Wash
- Elution Reagent/

Hóa chất được bảo quản ở 2- 8°C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ

Nước tiểu 24 giờ được bảo quản bằng 5ml HCl 37% ở 2- 8°C.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm CATECHOLAMIN.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm CATECHOLAMIN theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn CATECHOLAMIN.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm CATECHOLAMIN. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng nước tiểu và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Giá trị tham chiếu**

- Epinephrin: 9.2 - 122.3 nmol/24giờ.
- Norepinephrin: 71.5 - 505.3 nmol/24giờ.
- Dopamin: 0 - 3227 nmol/24giờ.

##### **2. Tăng trong:** U tủy thượng thận

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Nước tiểu 24giờ của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, có pH đạt 1.0- 3.0, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## **182. ĐỊNH LƯỢNG COCAIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Cocain được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn  $\beta$  galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Cocain nó tác động lên Cocain tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Cocain trong mẫu cạnh tranh với Cocain liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của  $\beta$  Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Cocain có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Cocain không có mặt trong mẫu thử. Cocain liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ  $\beta$  Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Cocain trong mẫu thử

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Cocain, chất chuẩn Cocain, chất kiểm tra chất lượng Cocain.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Cocain. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Cocain. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Cocain đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Xét nghiệm Cocain trong nước tiểu sử dụng cut-off là 150 hay 300 ng/mL tùy lựa chọn so với mẫu nước tiểu âm tính.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Aceton < 1g/dL
  - + Acid Ascorbic <0.15 g/dL
  - + Ethanol <1 mg/dL.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

## 183. ĐỊNH LƯỢNG CORTISOL

### I. NGUYÊN LÝ

Cortisol được định lượng bằng phương pháp miễn dịch điện hóa phát quang theo nguyên lý cạnh tranh thực hiện trên máy Elecsys hoặc hệ thống Cobas.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy Elecsys hoặc Cobas

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy Elecsys 1010, 2010 hoặc hệ thống Cobas 6000, 8000.
- Máy ly tâm và các dụng cụ xét nghiệm khác
- Hoá chất làm xét nghiệm cortisol của hãng ROCHE:
- Bảo quản ở 2-8°C.
- Lọ hoá chất phải luôn để thẳng đứng để đảm bảo các vi hạt không bám dính trên thành lọ hóa chất.
- Hoá chất ổn định đến hạn sử dụng khi chưa mở nắp, 12 tuần sau khi mở nắp ở 2-8°C, 8 tuần trên máy.
- Dung dịch kiểm tra cortisol của hãng Roche: Elecsys PreciControl Universal 1 và 2 hoặc của hãng Biorad.

**3. Người bệnh:** người bệnh nghi ngờ có bệnh lý của tuyến thượng thận, tuyến yên

**4. Phiếu xét nghiệm:** Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Nước tiểu 24 giờ không sử dụng chất bảo quản. Ly tâm bệnh phẩm nếu nước tiểu đục. Bệnh phẩm không ly tâm có thể để trong 7 ngày ở 2-8 °C, 3 tháng ở -20°C. Bệnh phẩm đã ly tâm có thể để trong 7 ngày ở 2-8°C, 4 tuần ở -20°C. Chỉ rã đông 1 lần.
- Bệnh phẩm, dung dịch chuẩn (calibrator) và huyết thanh kiểm tra (control) phải để ổn định ở nhiệt độ phòng (20-25°C ) trước khi đo và làm xét nghiệm trong vòng 2 giờ.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

Bệnh phẩm được quay ly tâm và đưa vào phân tích tự động trên máy theo quy trình hoạt động của máy. Kết quả được máy in tự động in ra.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Nước tiểu 24 giờ: 100-379nmol/24 giờ.

- Cortisol nước tiểu tăng trong:

Có thai (tháng thứ 3-9), cường vỏ thượng thận, stress, hội chứng Cushing, u vỏ thượng thận, choáng nặng, cường giáp, dùng ACTH, cường yên, sản giật.

- Cortisol nước tiểu giảm:

Bệnh Addison (nhược năng vỏ thượng thận), nhược năng vùng dưới đồi-tuyến yên, nhược giáp.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Xét nghiệm cortisol bị ảnh hưởng trong các trường hợp sau:

+ Protein : 0,6 g/l

+ NaCl : 750 mmol/l

+ Ure : 350 mmol/l

+ Creatinin: 5 mmol/l

+ Glucose: 2 mmol/l

- Người bệnh đang dùng prednisolone, methylprednisolone hoặc prednisone cũng làm sai lệch kết quả

- GIỚI HẠN ĐO:

+ Giới hạn đo của cortisol là 0,5- 1750 nmol/l

+ Khi nồng độ cortisol vượt quá giới hạn này có thể pha loãng bệnh phẩm bằng dung dịch Elecsys Diluent Universal của hãng theo tỉ lệ 1:10.



## 184. ĐỊNH LƯỢNG CREATININ

### I. NGUYÊN LÝ

Động học so màu: creatinin tạo phức hợp màu vàng cam với acid picric trong môi trường kiềm (phương pháp Jaffe). Sự thay đổi mật độ quang được đo ở bước sóng 520/800 nm tỉ lệ với nồng độ creatinin trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

##### 2.2. Hóa chất

- Sodium hydroxide
- Picric acid
- Chất bảo quản

Hóa chất được bảo quản ở 2-8°C, tránh ánh sáng trực tiếp. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở 2 - 8°C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25-30°C, ổn định trong vòng 2 ngày.

Bệnh phẩm hòa loãng 1/50 với nước cất; kết quả thu được nhân với độ hòa loãng.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm creatinin.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm creatinin theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn creatinin.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm creatinin. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho

người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Giá trị tham chiếu:**

- Nam: 9.0 – 21.0 mmol/24giờ
- Nữ: 7.0 – 14.0 mmol/24 giờ

##### **2. Creatinin nước tiểu tăng trong**

- Cường giáp, bệnh của cơ...
- Tiểu đường kèm dinh dưỡng kém.
- Kinh nguyệt, có thai, sau đẻ.

##### **3. Creatinin nước tiểu giảm trong**

Suy thận.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Mẫu nước tiểu 24giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 185. ĐỊNH LƯỢNG DƯỠNG CHẤP

### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng dưỡng hấp bằng Enzym so màu: triglycerid trong mẫu nước tiểu bị thủy phân dưới tác dụng của lipase tạo glycerol. Glycerol tham gia phản ứng phosphoryl hóa tạo glycerol-3-phosphate; glycerol-3-phosphate bị oxy hóa tạo ra  $H_2O_2$ ;  $H_2O_2$  phản ứng với 4AAP và 4-Chlorophenol tạo hợp chất có màu đỏ. Độ đậm của màu tỷ lệ với nồng độ triglyceride (thành phần chính của dưỡng chấp) trong nước tiểu.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

##### 2.2. Hóa chất

- 4-Chlorophenol
- 4-Aminoantipyrin
- ATP
- Chất bảo quản.

Hóa chất được bảo quản ở  $2 - 8^{\circ}C$ . Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Nước tiểu, bảo quản ở  $2 - 8^{\circ}C$ , ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở  $25 - 30^{\circ}C$ , ổn định trong vòng 2 ngày.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm dưỡng chấp.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm dưỡng chấp theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn dưỡng chấp.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm dưỡng chấp. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho

người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- **Trị số bình thường:** Âm tính

- **Bệnh lý:** đái ra đường chấp với nồng độ cụ thể tùy từng trường hợp bệnh nhân (g/L)

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 186. ĐỊNH TÍNH DƯỠNG CHẤP

### I. NGUYÊN LÝ

Dùng ete để chiết xuất dưỡng chấp. Sau đó cho bay hơi ete còn lại cặn dưỡng chấp có màu vàng

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Kỹ thuật viên phòng xét nghiệm

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

Bình cỡ 200 ml, bát sứ

##### 2.2. Hóa chất

- Dung dịch cồn Amoniac

Cồn 90<sup>0</sup>                      4,7 ml

Amoniac đặc                15 ml

Nước cất vừa đủ        500 ml

- Dung dịch Adam

Ete                              11 ml

Cồn Amoniac                10 ml

Dung dịch này pha khi làm

#### 3. Người bệnh

Chế độ ăn chất béo một ngày hoặc một đêm trước xét nghiệm cần được thực hiện để làm tăng dưỡng chấp niệu

**4. Phiếu xét nghiệm:** Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu ngẫu nhiên

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Cho vào bình cỡ 200 ml

+ Nước tiểu:                      10 ml

- + Amoniac: 5 giọt
- + Dung dịch Adam: 21 ml
- Lắc nhẹ, để 15 phút
- Gạn bỏ phần nước ở dưới, rửa 2 lần bằng nước cất, mỗi lần khoảng 5- 10 ml.
- Gạn bỏ nước, tráng bình bằng 2ml ete.
- Gạn ete vào bát sứ, làm khô bằng cách thủy sôi.
- Lau khô nước bám vào bát sứ, đặt vào bình hút ẩm độ vài giờ.
- Nếu có một lớp vàng bám vào bát sứ là dương tính

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

1. Dưỡng chấp niệu do ký sinh trùng, là loại chủ yếu, gặp ở vùng nhiệt đới (Parasitic, primary, tropical): các ký sinh trùng có thể gây dưỡng chấp niệu gồm:

- Giun chỉ (*Wuchereria bancrofti*)
- Sán dây (*Taenia echinococcus*)
- Sán nana (*Taenia nana*)
- Các ký sinh trùng sốt rét (Malarial parasites)

2. Dưỡng chấp niệu không do ký sinh trùng, là loại thứ yếu, không gặp ở vùng nhiệt đới (Nonparasitic, secondary: nontropical)

- Bệnh bẩm sinh (Congenital)
- Các u bạch huyết đường tiết niệu (Lymphangiomas of urinary tract)
- Mạch bạch huyết lớn ở niệu đạo hoặc bàng quang bị rò
- Chứng hẹp ống ngực
- Rò ống thanh dịch sau phúc mạc
- Rò đường bạch huyết - tiết niệu do chấn thương
- Tắc đường bạch huyết do:
  - + Tắc ống ngực do khối u
  - + Các tuyến u hạt, phình động mạch chủ và các dị tật
  - + Tắc các ống bạch huyết sau phúc mạc do một số nguyên nhân
- Các nguyên nhân khác:
  - + Thai nghén
  - + Đái tháo đường

+ Thiếu máu ác tính (Perniceous anaemia)

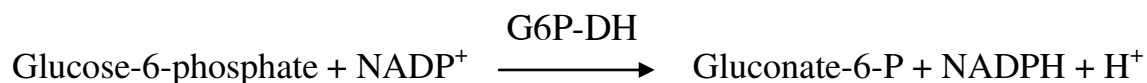
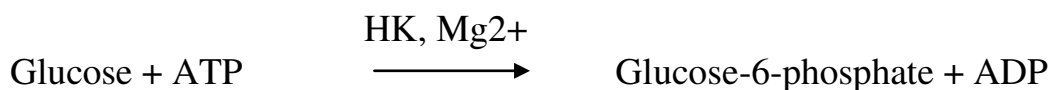
## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Do xét nghiệm ete kém nhạy với trường hợp dưỡng chấp niệu nhẹ nên có thể kết hợp với xét nghiệm đánh giá độ đục.
- Gần đây, người ta cũng sử dụng phương pháp điện di để phát hiện các thành phần lipid của nước tiểu và triglycerid của nước tiểu đã được chứng minh có mặt nếu triệu chứng lâm sàng là rõ ràng. Xét nghiệm triglycerid có độ nhạy và độ đặc hiệu 100% đối với dưỡng chấp niệu. Đây là một xét nghiệm không xâm lấn và không phụ thuộc vào sai số thực hành. Các giá trị được đánh giá của chylomicron, triglycerid và cholesterol trong nước tiểu có thể chỉ dẫn mức độ bất thường của bệnh.

## 187. ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE

### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng glucose theo phương pháp Hexokinase.



*HK: hexokinase*

*G6P-DH: glucose-6-phosphate dehydrogenase*

Đo ở bước sóng 340 nm

### III. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ và Cử nhân xét nghiệm đã được đào tạo vận hành máy AU.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy phân tích AU 400, AU 640...

- Hóa chất

+ Hóa chất của Olympus (phương pháp Hexokinase): Bảo quản tránh ánh sáng. Ổn định trong 30 ngày sau khi mở nắp và bảo quản trên máy.

+ Hóa chất của Stanbio (phương pháp Hexokinase): Bảo quản tránh ánh sáng. Ổn định trong 90 ngày sau khi mở nắp và bảo quản trên máy.

+ Huyết thanh kiểm tra chất lượng của Biorad

#### 3. Người bệnh: nghi ngờ người bệnh đái tháo đường

#### 4. Phiếu xét nghiệm: Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu tươi, lấy ngẫu nhiên, ổn định trong 2 giờ ở nhiệt độ 20 – 25°C. Đo càng sớm càng tốt. Để tăng độ nhạy nên lấy nước tiểu sau ăn

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

Bệnh phẩm được phân tích trên máy AU 400 và AU 640 ...

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ



1. Trị số bình thường:

Glucose trong nước tiểu:

+ Trị số bình thường: 0,1 – 0,8 mmol/l

+ Glucose xuất hiện trong nước tiểu khi ngưỡng thận thấp, khi bị đái tháo đường, khi dùng ACTH hay corticoid kéo dài...

2. Đây là xét nghiệm vừa ít nhạy, vừa không đặc hiệu nên ít được sử dụng, người ta chỉ dùng xét nghiệm này khi không làm được xét nghiệm máu. Kết quả glucose niệu dương tính đòi hỏi một xét nghiệm về glucose máu để xác minh.

### **V.NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.**

Mẫu nước tiểu:

- Nồng độ ascorbate 50mg/dL gây nhiễu dưới 3% kết quả.

- Nồng độ bilirubin 684  $\mu\text{mol/l}$  gây nhiễu dưới 3% kết quả.

## 188. ĐỊNH TÍNH MARIJUANA

### I. NGUYÊN LÝ

Sắc ký miễn dịch cạnh tranh: marijuana trong mẫu nước tiểu cạnh tranh với marijuana ở những vị trí gắn kết kháng thể. Trong quá trình xét nghiệm, mẫu nước tiểu thấm lên trên dọc theo màng thấm kit thử nhờ mao dẫn. Marijuana, nếu có mặt trong nước tiểu với nồng độ thấp hơn 300 ng/ml, sẽ không thể bão hòa các vị trí gắn kết của những phần tử phủ kháng thể trên kit thử. Những phần tử này sẽ bị giữ lại sau đó bởi liên hợp marijuana bất động và hình thành vạch màu trên vùng kết quả. Vạch màu không được hình thành trên vùng kết quả nếu mức độ marijuana trên 300 ng/ml vì nó bão hòa được tất cả các vị trí gắn kết của kháng thể kháng marijuana. Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm, một vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (gọi là vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**Hóa chất:**

- Thanh thử marijuana
- Hóa chất được bảo quản ở 25 - 30°C.

#### 3. Người bệnh

Nước tiểu; bảo quản ở 2 - 8°C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 - 30°C, ổn định trong vòng 2 ngày.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu
- Đọc kết quả sau 5 phút:
  - + Dương tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C
  - + Âm tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị bình thường: Âm tính
- Dương tính: sử dụng các loại thuốc có chứa marijuana.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

- Nước tiêu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.
- Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 189. ĐỊNH LƯỢNG MAU

(Microalbumin in urine – Micro albumin trong nước tiểu)

### I. NGUYÊN LÝ

Miễn dịch đo độ đục: MAU phản ứng đặc hiệu với kháng thể kháng MAU tạo hợp chất không tan làm đục môi trường. Mật độ quang của môi trường phản ứng tỷ lệ với nồng độ MAU trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

##### 2.2. Hóa chất

-Kháng thể kháng albumin

Hóa chất được bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

Nước tiểu, bảo quản ở 2 - 8<sup>0</sup>C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 - 30<sup>0</sup>C, ổn định trong vòng 2 ngày.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm MAU.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm MAU theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn MAU.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm MAU. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng nước tiểu và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- **Trị số bình thường:** < 30 mg/24giờ
- **MAU tăng trong:** Phát hiện sớm biến chứng thận ở người bệnh đái tháo đường, tăng huyết áp.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## **190. ĐỊNH LƯỢNG METHADON**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Methadon được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn  $\beta$  galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng Methadon nó tác động lên Methadon tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, Methadon trong mẫu cạnh tranh với Methadon liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của  $\beta$  Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu Methadon có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu Methadon không có mặt trong mẫu thử. Methadon liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ  $\beta$  Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động.

Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ Methadon trong mẫu thử

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Methadon, chất chuẩn Methadon, chất kiểm tra chất lượng Methadon.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích. Thời gian ổn định của Methadon trong nước tiểu từ 15 - 25 giờ tùy pH nước tiểu.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Methadon. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Methadon. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Methadon đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Xét nghiệm Methadon trong nước tiểu sử dụng cut-off là 300 ng/mL

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Aceton < 1g/dL
- + Acid Ascorbic <1.5 g/dL
- + Ethanol <1 mg/dL.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

## **191. ĐỊNH LƯỢNG NGAL**

### **(Urine Neutrophil Gelatinase - Associated Lipocalin)**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Xét nghiệm NGAL trong nước tiểu để định lượng lipocalin trung tính có liên hệ với gelatinase trong nước tiểu người. NGAL là một trong những protein được sản sinh trong thận sau chứng thiếu máu cục bộ hay ngộ độc thận.

Xét nghiệm định lượng NGAL trong nước tiểu là xét nghiệm miễn dịch hai bước sử dụng phép phân tích miễn dịch Vi hạt hóa phát quang CMIA (Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay) với quy trình xét nghiệm linh hoạt để định lượng NGAL trong nước tiểu người. Bước 1: mẫu thử và dung dịch đệm được kết hợp với nhau tạo độ pha loãng mẫu tỉ lệ 1:10. Mẫu đã pha loãng với dung dịch đệm và vi hạt thuận từ phủ anti-NGAL được kết hợp lại. NGAL có trong mẫu thử liên kết với anti-NGAL phủ trên vi hạt thuận từ, rửa hỗn hợp phản ứng. Sau đó anti-NGAL có đánh dấu acridinium được cho vào ở bước hai. Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng (RLUs). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng NGAL trong mẫu và RLUs sẽ được bộ phận quang học trong máy ARCHITECT phát hiện.

#### **II. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ và Cử nhân XN được đào tạo vận hành máy Architect

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

###### **2.1. Phương tiện:**

- Máy Architect ir1000
- Ống hay lọ sạch dùng để lấy nước tiểu.

###### **2.2. Hóa chất:**

Bộ thuốc thử, 100 test/500 test ARCHITECT NAGL

- Các vi hạt: 1 chai (6,6 mL / 27,0 mL) Anti-NGAL (chuột, kháng thể đơn dòng) phủ trên vi hạt trong dung dịch đệm TRIS với chất ổn định và tẩy protein (tù bào). Nồng độ tối thiểu: 0,08% rắn. Chất bảo quản: ProCloid 300
- Chất kết hợp: 1 chai (5,9 mL / 26,3 mL) Anti-NGAL (chuột, kháng thể đơn dòng) chất kết hợp có đánh dấu acridinium trong dung dịch đệm TRIS với chất ổn định và tẩy protein (tù bào). Nồng độ tối thiểu: 200 ng/mL.



**3. Người bệnh:** Những người bệnh nghi ngờ suy thận cấp

**4. Phiếu xét nghiệm:** Thống nhất theo mẫu quy định của bệnh viện và của Bộ Y tế

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Loại mẫu dùng cho xét nghiệm ARCHITECT Urine NGAL chỉ là mẫu nước tiểu người. Lấy mẫu nước tiểu bất kỳ.

- Điều kiện mẫu: Không sử dụng mẫu có tạp chất, nhiễm khuẩn, nhiễm nấm thấy bằng mắt thường. Không dùng cho tử thi hay dịch cơ thể.

- Chuẩn bị phân tích: Ngay khi lấy mẫu trong vòng 24 giờ, mẫu phải chuyển sang ống ly tâm và ly tâm ở  $\geq 400$  RCF (Relative Centrifugal Force) tối thiểu trong 5 phút. Sau đó hút phân dịch trong sang cốc đựng mẫu hay ống tuýp thứ hai để chạy xét nghiệm và/hoặc để lưu.

- Bảo quản:

Mẫu bảo quản 24h ở nhiệt độ phòng (22-30°C) hay 7 ngày ở 2-8°C. Nếu chưa thực hiện xét nghiệm, mẫu nên để đông lạnh  $\leq -70^{\circ}\text{C}$

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Lắc đảo ngược chai vi hạt 30 lần để phân tán các vi hạt có thể bị lắng trong quá trình vận chuyển. Nạp Bộ thuốc thử ARCHITECT NGAL vào hệ thống ARCHITECT ir1000.

- Kiểm tra để chắc rằng có đủ tất cả thuốc thử cần thiết cho xét nghiệm.

- Đảm bảo rằng các chai thuốc thử đã mở nắp đều có màng ngăn đầy lại.

- Tiến hành hiệu chuẩn nếu cần.

Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng.

- Lắc trộn chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng NGAL ARCHITECT nhẹ nhàng trước khi sử dụng.

- Yêu cầu chai đựng mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra chất lượng NGAL phải giữ theo chiều thẳng đứng và nhỏ 5 giọt mẫu chuẩn hay 5 giọt của mỗi mẫu kiểm tra chất lượng vào từng cup đựng mẫu tương ứng. Sau đó nạp mẫu và nhấn nút RUN.

Quy trình pha loãng mẫu: Mẫu với nồng độ NGAL nước tiểu  $> 1500$  ng/mL được đánh dấu (flag) có thể được pha loãng bằng quy trình pha loãng tự động. Người vận hành sẽ đặt lệnh pha loãng theo tỉ lệ 1:4 cho mẫu, máy tự động tính toán nồng độ của mẫu và báo cáo kết quả.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Xét nghiệm NGAL trong nước tiểu để định lượng licapolin trung tính gắn với gelatinase trong nước tiểu người. Định lượng NGAL trong nước tiểu người như là một dấu ấn phát hiện sớm suy thận cấp.

**1. Bình thường:** Nồng độ NGAL trong nước tiểu  $\leq 131,7$  ng/mL

**2. Giới hạn đo của máy:** từ 10 ng/mL đến 1500 ng/mL.

### **3. Bệnh lý**

- NGAL là một trong những protein được sản sinh trong thận sau chứng thiếu máu cục bộ hay ngộ độc thận.

- Nồng độ NGAL cao trong nước tiểu trong vòng 2 giờ sau chấn thương thận, trong ngộ độc thận hay thiếu máu cục bộ thận. Định lượng NGAL trong nước tiểu giúp cho lâm sàng chẩn đoán sớm suy thận cấp và theo dõi người bệnh.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Thận trọng khi xử lý các mẫu xét nghiệm của người bệnh để ngăn ngừa nhiễm chéo. Nên sử dụng pipet dùng một lần hay pipet có đầu côn.

- Nếu mẫu được bảo quản, trộn tất cả các mẫu ở nhiệt độ thấp hoặc lắc đảo ngược 10 lần. Quan sát mẫu bằng mắt thường cho đến khi mẫu không còn bị phân lớp. Nếu chưa được, tiếp tục thực hiện lắc trộn mẫu cho đến khi mẫu đồng nhất. Ly tâm theo hướng dẫn ở trên trước khi thực hiện xét nghiệm để tránh sai sót.

## **192. ĐỊNH LƯỢNG OPIAT**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Opiat nước tiểu được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzym

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Opiat, chất chuẩn Opiat, chất kiểm tra chất lượng Opiat.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy mẫu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

Nước tiểu được lấy vào dụng cụ sạch (nhựa hoặc thủy tinh). Ly tâm mẫu nước tiểu đục trước khi phân tích.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Opiat. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Opiat. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Opiat đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đọc máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Xét nghiệm Opiat trong nước tiểu sử dụng cut-off là 300 ng/mL.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Aceton < 1g/dL

+ Acid Ascorbic < 0.15 g/dL

+ Ethanol < 1 mg/dL.

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

## 193. ĐỊNH TÍNH MORPHIN

### I. NGUYÊN LÝ

Định tính Morphin bằng kỹ thuật sắc ký miễn dịch cạnh tranh: Morphin trong mẫu nước tiểu cạnh tranh với morphin ở những vị trí gắn kết kháng thể. Trong quá trình xét nghiệm, mẫu nước tiểu thấm lên trên dọc theo màng thấm kit thử nhờ mao dẫn. Morphin, nếu có mặt trong nước tiểu với nồng độ thấp hơn 300 ng/ml, sẽ không thể bão hòa các vị trí gắn kết của những phân tử phủ kháng thể trên kit thử. Những phân tử này sẽ bị giữ sau đó bởi liên hợp morphin bất động và hình thành vạch màu trên vùng kết quả. Vạch màu không được hình thành trên vùng kết quả nếu mức độ morphin trên 300 ng/ml vì nó bão hòa được tất cả các vị trí gắn kết của kháng thể kháng morphin. Nhằm mục đích kiểm tra quy trình thao tác xét nghiệm, một vạch màu luôn luôn xuất hiện tại vùng chứng (gọi là vạch chứng) để chứng tỏ rằng lượng mẫu đã đủ và lớp màng đã thấm tốt.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**Hóa chất:**

- Thanh thử morphin

Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30°C.

#### 3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

Nước tiểu; bảo quản ở 2 – 8°C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 – 30°C, ổn định trong vòng 2 ngày

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Nhúng ướt thanh thử vào nước tiểu
- Đọc kết quả sau 5 phút:

+ Dương tính: xuất hiện một vạch ở vị trí C

+ Âm tính: xuất hiện hai vạch ở vị trí C và T

- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị bình thường: Âm tính
- Dương tính: sử dụng các loại thuốc có chứa morphin.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng đạt yêu cầu của quy trình kiểm tra chất lượng.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 194. ĐỊNH LƯỢNG PHOSPHO

### I. NGUYÊN LÝ

Phospho vô cơ phản ứng với molybdate tạo phức heteropolyacid. Mật độ quang được đo ở bước sóng vùng tử ngoại (340/380) nm, tỉ lệ thuận với nồng độ phospho trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,...

##### 2.2. Hóa chất

- Sulphuric acid
- Ammoniumheptamolybdate
- Glycine
- Chất bảo quản.

Hóa chất được bảo quản ở 2- 8<sup>0</sup>C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ.

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở 2- 8<sup>0</sup>C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 - 30<sup>0</sup>C, ổn định trong vòng 2 ngày.

Bệnh phẩm hòa loãng 1/5 với nước cất; kết quả thu được nhân với độ hòa loãng.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm phospho.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm phosphor theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn phosphor.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm phosphor. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

**1. Trị số bình thường:** 12.9 - 42.0 mmol/24 giờ

**2. Phospho nước tiểu tăng trong**

- Cường cận giáp
- Thiếu Vitamin D
- Hội chứng Debré-Fanconi
- Ăn nhiều thịt.
- Bất đông...

**3. Phospho nước tiểu giảm trong**

- Nhược cận giáp
- Viêm thận mạn.
- Thương hàn, thiếu máu
- Ăn nhiều rau...

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

**1. Trước phân tích**

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

**2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

**3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.



## 195. ĐỊNH TÍNH PHOSPHO HỮU CƠ

Phospho hữu cơ là chất ức chế mạnh các carboxylic ester hydrolase bao gồm: Acetylcholinesterase và Pseudocholinesterase huyết tương, dẫn đến sự tích tụ các Acetylcholin tại các synap thần kinh. Trên lâm sàng thường gặp 3 hội chứng liên quan đến ngộ độc Phospho hữu cơ: hội chứng Muscarin, hội chứng Nicotin và hội chứng Thần kinh trung ương.

Phospho hữu cơ được hấp thụ vào cơ thể qua đường tiêu hóa, đường hô hấp, đường da và niêm mạc.

### I. NGUYÊN LÝ

Định tính Phospho hữu cơ có trong nước tiểu hoặc dịch rửa dạ dày bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Thin Layer Chromatography)

Sắc ký lớp mỏng (TLC) là một kỹ thuật sắc ký được dùng để tách các chất trong hỗn hợp khi cho pha động di chuyển qua pha tĩnh (đã được đặt sẵn hỗn hợp cần tách). Pha tĩnh là một lớp mỏng chất hấp phụ, thường là silica gel, aluminium oxide, hoặc cellulose được phủ trên một mặt phẳng chất trơ. Pha động bao gồm dung dịch cần phân tích được hòa tan trong một dung môi thích hợp và được hút lên bản sắc ký bởi mao dẫn. Trong quá trình di chuyển trên lớp hấp phụ, *các cấu tử trong hỗn hợp phân tích di chuyển trên lớp mỏng, cùng chiều với pha động, với tốc độ khác nhau*. Kết quả ta thu được 1 sắc ký đồ trên lớp mỏng.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sỹ, cử nhân, được đào tạo kỹ thuật định tính Phospho hữu cơ bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC).

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Hệ thống chạy sắc ký lớp mỏng Nanomat 4 của hãng Camag
- Bình chiết 250 mL
- Đĩa Persi, cốc có mỏ
- Bộ chấm mẫu
- Giấy quỳ

##### 2.2. Hóa chất

- Pha tĩnh: Bản mỏng Silica gel (10 cm × 3 cm).
- Pha động: Dung dịch (nHexan : Aceton) theo tỷ lệ thể tích 4 : 1.

- Dung dịch hiện màu  $\text{PdCl}_2$  0,25% /  $\text{HCl}$  0,1N.
- Dung môi chiết: Diethyl Ether, còn tuyệt đối.
- Dung dịch  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10%.
- Dung dịch chuẩn : Thường dùng thuốc trừ sâu nhóm lân hữu cơ như Volphatox (Methyl Parathion-MP), Thiophot (Parathion), Dipterex và DDVP (Dichlorvos, Vapona).

**3. Người bệnh:** Người bệnh khoa Hồi sức cấp cứu nghi ngờ nhiễm độc Phospho hữu cơ.

**4. Phiếu xét nghiệm:** theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế, phải điền đầy đủ thông tin người bệnh...

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm:
  - + Nước tiểu: 50 – 150 mL (tốt nhất 150mL)
  - + Dịch rửa dạ dày: 50 – 150 mL
- Lấy bệnh phẩm cho vào lọ sạch, đậy kín.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Tách chiết mẫu

- Cho vào bình chiết mẫu 50 - 100mL nước tiểu hoặc dịch rửa dạ dày, 20-30mL Diethyl Ether, thêm một vài giọt  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10% (*để đảm bảo môi trường là acid, có thể kiểm tra bằng giấy quỳ*).
- Lắc trộn đều dung dịch trong bình chiết. Sau đó để yên cho dung dịch phân thành 2 lớp, chiết lấy phần dung dịch phía trên.
- Cho thêm vào bình chiết 1-5mL còn tuyệt đối. Tiếp tục lắc nhẹ và đều dung dịch, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, và chiết lấy phần dung dịch phía trên.
- Cho dung dịch thu được ra đĩa Persi, đun trên bếp để bay hơi bớt dung môi.

##### 2.2. Chấm mẫu và chạy sắc ký lớp mỏng

- Đặt bản mỏng trên bàn chấm mẫu, cố định bản mỏng bằng nam châm.
- Sử dụng kim chấm mẫu để lấy mẫu bệnh và mẫu đối chứng (chuẩn), sau đó tiến hành chấm lên bản mỏng. Sau khi chấm mẫu xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng khoảng 10 phút (hoặc sấy khô nhiệt độ  $40^\circ\text{C}$  khoảng 1 phút).
- Cho dung dịch chạy sắc ký nHexan-Aceton (4:1) vào bình chạy mẫu (lớp dung dịch dày khoảng 1-5mm), đặt bản mỏng mới chấm vào bình và đậy nắp bình lại.

*\* Lưu ý: phần chấm mẫu đặt phía dưới, tiếp xúc với dung môi chạy. Điểm chấm mẫu cách mặt dung môi khoảng 0,5-1cm.*

- Chờ cho dung môi chạy gần hết chiều dài của bản mỏng (cách mép trên khoảng 1cm), lấy bản mỏng ra và để khô ở nhiệt độ phòng (hoặc sấy khô).

- Sử dụng thuốc hiện màu  $\text{PdCl}_2$  0,25% / HCl 0,1N phun đều lên bản mỏng.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

So sánh vết màu tạo ra trên bản mỏng (vết mẫu bệnh và vết mẫu chuẩn):

- Dương tính: trên bản mỏng xuất hiện 2 vết có cùng màu vàng cam trên nền trắng và  $R_f$  của mẫu thử tương đương với  $R_f$  của mẫu chuẩn thì kết luận là có Phospho hữu cơ trong mẫu thử.

$R_f$ : hệ số di chuyển, được tính bằng tỷ lệ giữa khoảng dịch chuyển của chất thử và khoảng dịch chuyển của dung môi

Công thức tính: 
$$R_f = \frac{a}{b}$$

*Trong đó:*

*a (cm): khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết mẫu thử.*

*b (cm): khoảng cách từ điểm xuất phát đến mức dung môi đo trên cùng đường đi của vết.*

*$R_f$ : Chỉ có giá trị từ 0 đến 1.*

- Âm tính: Trên bản mỏng chỉ xuất hiện 1 vết màu vàng cam của mẫu chuẩn thì kết luận không có Phospho hữu cơ trong bệnh phẩm.

#### V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

##### 1. Kết quả âm tính giả

Nguyên nhân:

- Quá trình tách chiết chất cần phân tích chưa đúng
- Chất cần phân tích bị biến đổi trong quá trình tách chiết, đặc biệt là bước đuổi dung môi trên bếp.
- Chất cần phân tích bị rơi bớt theo phần dung môi cần loại bỏ

Cách xử trí: Tiến hành làm lại xét nghiệm một cách cẩn trọng

##### 2. Kết quả không xuất hiện vết màu cam trên bản mỏng

Nguyên nhân:

- Dung dịch hiện màu bị hỏng

- Dung dịch chuẩn bị hỏng

Cách xử trí: Thay các dung dịch bị hỏng

### **3. Dương tính giả**

Nguyên nhân: Xử lý mẫu chưa đạt, còn tạp chất trong mẫu thử

Cách xử trí: Tiến hành xử lý mẫu lại, cẩn thận hơn. Xem lại dung dịch pha động.

## 196. ĐỊNH TÍNH PORPHYRIN

### I. NGUYÊN LÝ

Porphyrin trong môi trường acid Clohydric tạo phức chất có màu hồng.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**Hóa chất:**

- Acid acetic
- Ether
- Acid HCl 20%

Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30°C.

#### 3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích của việc làm xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

Nước tiểu, bảo quản ở 2 - 8°C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25 - 30°C, ổn định trong vòng 2 ngày.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cho vào bình gạn:
  - + Nước tiểu : 40 ml
  - + Acid acetic : 5 ml
  - + Ether : 10ml
- Lắc đều, để yên 30 phút, gạn bỏ phần nước tiểu giữ lại phần ether ở trên.
- Thêm HCL 20%: 2 ml, lắc đều.
- Để 1 giờ
- Đọc kết quả ở phần dưới:
  - + Có màu hồng thẫm: dương tính
  - + Có màu hồng nhạt: Bình thường
  - + Không có màu: Âm tính
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: Bình thường
- Phản ứng Porphyrin dương tính trong: Đái ra porphyrin

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Đảm bảo đúng quy trình kỹ thuật.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 197. ĐIỆN DI PROTEIN

### I. NGUYÊN LÝ

Dùng dòng điện 1 chiều để dịch chuyển các phân tử protein trên môi trường gel dựa trên lực Lorenz. Những phân tử khác nhau sẽ dịch chuyển với tốc độ khác nhau mà ta có thể quan sát được trên điện di đồ. Tốc độ di chuyển này được quyết định bởi 3 yếu tố: điện tích, kích thước và khối lượng phân tử. ( xem chi tiết nguyên lý ở phần điện di protein trong huyết thanh).

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**Máy điện di tự động**

**Hóa chất:**

Hóa chất được bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích của xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Huyết thanh

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di protein.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm điện di protein theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn điện di protein.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm điện di protein. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.
- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh
-

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### 1. Trị số bình thường

- Total protein: 64.0 - 83.0 g/L
- Albumin: 35.0 - 50.0 g/L
- Alpha-1 globulin: 1.0 - 3.0 g/L
- Alpha-2 globulin: 6.0 - 10.0 g/L
- Beta globulin: 7.0 - 12.0 g/L
- Gamma globulin: 7.0 - 16.0 g/L

### 2. Điện di protein thay đổi trong

- Bệnh đa u tủy xương (Kahler): là xét nghiệm chính để chẩn đoán do nó có thể định lượng kháng thể bất thường đặc trưng trong máu. Những biến chứng của bệnh này là: suy thận, thiếu máu, tăng canxi máu.
- Viêm gan cấp, xơ gan: Gamma Globulin tăng; Albumin giảm.
- Hội chứng thận hư đơn thuần:  $\alpha_2$  Globulin,  $\beta$  Globulin máu tăng;  $\gamma$  Globulin máu giảm.
- Không đơn thuần: cả 3 đều tăng
- Lao phổi:  $\alpha_2$  Globulin,  $\gamma$  Globulin tăng

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

### 1. Trước phân tích

Mẫu máu phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, không có chứa chất chống đông, bảo quản ở 2-8°C.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

### 2. Trong phân tích

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

### 3. Sau phân tích

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.



## 198. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN

### I. NGUYÊN LÝ

Đo quang so màu: phức hợp pyrogallol đỏ - molybdate gắn với nhóm amino của phân tử protein tạo thành phức chất màu xanh tím có mật độ quang cực đại ở bước sóng 600nm. Mật độ quang tỉ lệ với nồng độ protein trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

##### 2.2. Hóa chất

- Sodium molybdate
- Succinic acid
- Sodium benzoate
- Sodium oxalate
- Methanol

Hóa chất được bảo quản ở 2 - 8°C, tránh ánh sáng trực tiếp. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh:

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm:

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH:

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ.

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở 2 - 8°C, ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở 25-30°C, ổn định trong vòng 2 ngày.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm protein.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm protein theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn protein.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm protein. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho

người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng nước tiểu và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: Âm tính
- Protein nước tiểu tăng trong:
  - + Các bệnh thận: suy thận, hội chứng thận hư, viêm cầu thận...
  - + Nhiễm độc thai nghén.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 199. ĐỊNH TÍNH PROTEIN BENCE-JONES

### I. NGUYÊN LÝ

Protein nhiệt tan (chuỗi nhẹ: Lambda hoặc Kappa), kết tủa ở nhiệt độ 50-60°C và tan khi sôi.

### I. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**Hóa chất:**

- NaCL 0,9%
- Acid acetic 1/10
- Giấy quỳ
- Giấy lọc
- Đèn cồn
- Ống nghiệm

Hóa chất được bảo quản ở 25 – 30°C.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được tư vấn trước khi làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### II. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Đun sôi và lọc để loại protein thật
- Điều chỉnh pH bằng acetic 1/10 cho chuyển màu đỏ với giấy quỳ.
- Lấy 2 ml nước tiểu và 2 ml NaCL 0,9% cho vào ống nghiệm, trộn đều đun nóng ống nghiệm trên ngọn lửa đèn cồn rồi quan sát:
  - + Protein Bence Jones xuất hiện khi nhiệt độ đạt tới 60°C, dung dịch trong ống nghiệm xuất hiện tủa trắng và tủa đó tan ra nếu tiếp tục đun sôi. Tủa lại xuất hiện khi dung dịch trong ống nghiệm được làm lạnh.
  - + Nếu không thấy có hiện tượng trên là không có protein Bence Jones.
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

### III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- **Trị số bình thường:** Âm tính
- **Proten Bence-Jones dương tính trong**  
Đa u tủy xương (Kahler)

## **IV. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Trước phân tích**

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

### **2. Trong phân tích**

Phải loại trừ protein thật bằng cách đun sôi rồi lọc.

### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 200. ĐỊNH TÍNH ROTUNDIN (ROTUNDA)

Rotundin (L-Tetrahydropalamin; Biệt dược: Rotunda, Roxen, Stilux) là Alcaloid chính trong củ cây bình vôi. Rotundin có tác dụng an thần, giảm đau, gây ngủ. Khi quá liều có thể gây ra ức chế thần kinh trung ương, ngủ gà, giảm trương lực, hôn mê, nhịp tim chậm, hạ huyết áp, ngừng thở (đặc biệt là ở trẻ em), có thể gây viêm gan khi điều trị Rotundin kéo dài.

Rotundin được hấp thụ vào cơ thể qua đường tiêu hóa (đường uống).

### I. NGUYÊN LÝ

Định tính Rotunda có trong nước tiểu hoặc dịch rửa dạ dày bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Thin Layer Chromatography).

Sắc ký lớp mỏng (TLC) là một kỹ thuật sắc ký được dùng để tách các chất trong hỗn hợp khi cho pha động di chuyển qua pha tĩnh (đã được đặt sẵn hỗn hợp cần tách). Pha tĩnh là một lớp mỏng chất hấp phụ, thường là silica gel, aluminium oxide, hoặc cellulose được phủ trên một mặt phẳng chất trơ. Pha động bao gồm dung dịch cần phân tích được hòa tan trong một dung môi thích hợp và được hút lên bản sắc ký bởi mao dẫn. Trong quá trình di chuyển trên lớp hấp phụ, *các cấu tử trong hỗn hợp phân tích di chuyển trên lớp mỏng, cùng chiều với pha động, với tốc độ khác nhau*. Kết quả ta thu được 1 sắc ký đồ trên lớp mỏng.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** Bác sỹ, cử nhân được đào tạo kỹ thuật định tính Rotunda bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC).

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Hệ thống chạy sắc ký lớp mỏng
- Bình chiết 250 mL
- Đĩa Persi, cốc có mỏ
- Bộ chấm mẫu (Nanommat 4 của hãng Camag)
- Giấy quỳ

##### 2.2. Hóa chất

- Pha tĩnh: Bản mỏng Silica gel (10 cm × 3 cm)
- Pha động: hỗn hợp dung dịch (Toluen : Aceton : Ethanol : NH<sub>4</sub>OH) theo tỷ lệ thể tích (45 : 45 : 7 : 3)
- Dung dịch *hiện màu Dragendorff*

Cách pha:

|                                            |                 |
|--------------------------------------------|-----------------|
| Dung dịch 1:                               | Dung dịch 2:    |
| Bi (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> : 0,85g | KI : 8g         |
| CH <sub>3</sub> COOH : 10mL                | Nước cất : 20mL |
| Nước cất : 40 mL                           |                 |

Hòa tan dung dịch 1 và 2 theo thể tích bằng nhau.

Dung dịch sử dụng: 10mL hỗn hợp + 100mL nước cất + 20mL CH<sub>3</sub>COOH

- Dung môi chiết: Diethyl Ether, cồn tuyệt đối
- Dung dịch NH<sub>4</sub>OH 10%
- Dung dịch chuẩn Rotunda

**3. Người bệnh:** Người bệnh khoa HSCC nghi ngờ bị nhiễm độc Rotunda

**4. Phiếu xét nghiệm:** theo mẫu quy định của Bệnh viện và của Bộ Y tế, phải điền đầy đủ thông tin người bệnh....

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Mẫu bệnh phẩm:
  - + Nước tiểu: 50 – 150 mL ( tốt nhất 150 mL)
  - + Dịch rửa dạ dày: 50 – 150 mL
- Lấy bệnh phẩm cho vào lọ sạch, đậy kín.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Tách chiết mẫu

- Cho vào bình chiết mẫu 50 - 100mL nước tiểu hoặc dịch rửa dạ dày, 20-30mL Diethyl Ether, thêm một vài giọt NH<sub>4</sub>OH 10% (*để đảm bảo môi trường là kiềm, có thể kiểm tra bằng giấy quỳ*).
- Lắc trộn đều dung dịch trong bình chiết. Sau đó để yên cho dung dịch phân thành 2 lớp, chiết lấy phần dung dịch phía trên.
- Cho thêm vào bình chiết 1 - 5mL cồn tuyệt đối. Tiếp tục lắc nhẹ và đều dung dịch, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, và chiết lấy phần dung dịch phía trên.
- Cho dung dịch thu được ra đĩa Persi, đun trên bếp để bay hơi bớt dung môi.

##### 2.2. Châm mẫu và chạy sắc ký lớp mỏng

- Đặt bản mỏng trên bàn châm mẫu, cố định bản mỏng bằng nam châm.

- Sử dụng kim chấm mẫu để lấy mẫu bệnh và mẫu đối chứng (chuẩn), sau đó tiến hành chấm lên bản mỏng. Sau khi chấm mẫu xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng (hoặc sấy khô).

- Cho dung dịch chạy sắc ký (Toluen : Aceton : Ethanol :  $\text{NH}_4\text{OH}$ ) vào bình chạy mẫu (lớp dung dịch dày khoảng 1 - 5mm), đặt bản mỏng mới chấm vào bình và đậy nắp bình lại

*\* Lưu ý: phần chấm mẫu đặt phía dưới, tiếp xúc với dung môi chạy. Điểm chấm mẫu cách mặt dung môi khoảng 0,5-1cm.*

- Chờ cho dung môi chạy gần hết chiều dài của bản mỏng (cách mép trên khoảng 1cm), lấy bản mỏng ra và để khô ở nhiệt độ phòng (hoặc sấy khô).

- Sử dụng thuốc hiện màu Dragendorff phun đều lên bản mỏng.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

So sánh vết màu tạo ra trên bản mỏng (vết mẫu bệnh và vết mẫu chuẩn):

- Dương tính: trên bản mỏng xuất hiện 2 vết có cùng màu vàng cam trên nền trắng và  $R_f$  của mẫu thử tương đương với  $R_f$  của mẫu chuẩn thì kết luận là có Rotunda trong mẫu thử.

$R_f$ : hệ số di chuyển, được tính bằng tỷ lệ giữa khoảng dịch chuyển của chất thử và khoảng dịch chuyển của dung môi

Công thức tính: 
$$R_f = \frac{a}{b}$$

*Trong đó:*

*a (cm): khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết mẫu thử.*

*b (cm): khoảng cách từ điểm xuất phát đến mức dung môi đo trên cùng đường đi của vết.*

*$R_f$ : Chỉ có giá trị từ 0 đến 1.*

- Âm tính: Trên bản mỏng chỉ xuất hiện 1 vết màu vàng cam của mẫu chuẩn thì kết luận không có Rotunda trong mẫu thử.

#### V. SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

##### 1. Kết quả âm tính giả

Nguyên nhân:

- Quá trình tách chiết chất cần phân tích chưa đúng

- Chất cần phân tích bị biến đổi trong quá trình tách chiết, đặc biệt là bước đuổi dung môi trên bếp.

- Chất cần phân tích bị rơi bột theo phần dung môi cần loại bỏ

Cách xử trí: Tiến hành làm lại xét nghiệm một cách cẩn trọng

## **2. Kết quả không xuất hiện vết màu cam trên bản mỏng**

Nguyên nhân:

- Dung dịch hiện màu bị hỏng
- Dung dịch chuẩn bị hỏng

Cách xử trí: Thay các dung dịch bị hỏng

## **3. Dương tính giả**

Nguyên nhân: Xử lý mẫu chưa đạt, còn tạp chất trong mẫu thử

Cách xử trí: Tiến hành xử lý mẫu lại, cẩn thận hơn. Xem lại dung dịch pha động



## **201. ĐỊNH LƯỢNG THC (CANABIONIDS)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

THC ( $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol là hoạt chất chính của cần sa) được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzyme.

Xét nghiệm dựa trên vi khuẩn  $\beta$  galactosidase đã được biến đổi gene để tạo hai mảnh vỡ. Những mảnh vỡ có thể tạo các enzyme mà trong khi định lượng THC nó tác động lên THC tạo sự thay đổi màu sắc và có thể đo được.

Trong khảo nghiệm, THC trong mẫu cạnh tranh với THC liên hợp trên 1 mảnh hoạt động của  $\beta$  Galactosidase về vị trí gắn kết kháng thể.

Nếu THC có trong mẫu thử, nó liên kết với kháng thể và mảnh vỡ tự do tạo enzyme hoạt động.

Nếu THC không có mặt trong mẫu thử. THC liên hợp ức chế sự hoạt động của mảnh vỡ  $\beta$  Galactosidase và không hình thành enzyme hoạt động. Lượng enzyme hình thành làm thay đổi độ hấp thụ tỷ lệ thuận với nồng độ THC trong mẫu thử

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như AU 640, AU 2700....

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm THC, chất chuẩn THC, chất kiểm tra chất lượng THC.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy nước tiểu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

Lấy nước tiểu vào dụng cụ sạch (thủy tinh hoặc nhựa). Mẫu nước tiểu đục phải ly tâm trước khi phân tích.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm THC. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm THC. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm THC đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Xét nghiệm THC trong nước tiểu sử dụng cut-off là 25 ng/mL.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 40 mg/dL.
  - + Tán huyết: Hemoglobin < 500 mg/dL.
  - + Huyết thanh đục: Triglyceride < 1100 mg/dL.
- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả)

## 202. ĐỊNH LƯỢNG URE

### I. NGUYÊN LÝ

Ure bị thủy phân dưới tác dụng của enzyme urease tạo ammonia; ammonia tác dụng với 2-oxoglutarat và NADH dưới tác dụng của GLDH tạo  $\text{NAD}^+$ . Sự giảm mật độ quang của NADH theo thời gian tỉ lệ với nồng độ ure trong mẫu bệnh phẩm ở bước sóng 340 nm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

##### 2.2. Hóa chất

- Urease
- NADH
- GLDH
- 2-oxoglutarat
- Chất bảo quản

Hóa chất được bảo quản ở  $2 - 8^{\circ}\text{C}$ . Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh: Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Nước tiểu 24 giờ.

Nước tiểu 24 giờ, bảo quản ở  $2 - 8^{\circ}\text{C}$ , ổn định trong vòng 7 ngày; bảo quản ở  $25 - 30^{\circ}\text{C}$ , ổn định trong vòng 2 ngày.

Bệnh phẩm hòa loãng 1/10 với nước cất; kết quả thu được nhân với độ hòa loãng.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm ure.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm ure theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn ure.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm ure. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người

bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Trị số bình thường: 166 - 581 mmol/24giờ**

##### **2. Ure nước tiểu tăng trong**

- Bệnh thận.
- Sốt cao.
- Tiểu đường.
- Một số bệnh gan.
- Nhiễm độc (Phospho, Antimoon, Asen...)

##### **3. Ure nước tiểu giảm trong**

- Bệnh gan (vàng da nặng, xơ gan phì đại, ung thư...)
- Suy thận mạn, Viêm thận nhiễm độc (Chì, Thủy ngân...).

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Mẫu nước tiểu 24 giờ phải được lấy theo đúng quy trình: dụng cụ lấy mẫu phải đảm bảo sạch, có chất bảo quản (nếu cần), bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C; lấy đủ toàn bộ nước tiểu của người bệnh trong 24 giờ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 203. TỔNG PHÂN TÍCH NƯỚC TIỂU (Bằng máy tự động)

### I. NGUYÊN LÝ

10 thông số hoá sinh nước tiểu được bán định lượng bằng thanh giấy thử sử dụng kỹ thuật đo phản quang. Riêng xét nghiệm tỷ trọng nếu thực hiện trên máy Urisys 2400 thì được đo bằng khúc xạ kế và kết quả có giá trị định lượng.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**2.1. Máy phân tích nước tiểu tự động:** Urisys 2400, Siegmen, ...

#### 2.2. Hóa chất

Urisys 2400 cassette

Hóa chất được bảo quản ở 25 – 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 ĐTD, giảm trong bệnh đái tháo nhạt. Tỷ trọng thấp kéo dài cũng thường gặp trong suy thận.

### **2. pH**

- Bình thường pH từ 5 - 6.
- pH axit: Đái tháo đường không kiểm soát, mất nước, đói lả.
- pH kiềm: nhiễm khuẩn tiết niệu

### **3. Các chất ceton**

Bình thường không có các chất ceton trong nước tiểu. Khi chúng xuất hiện thì có thể người bệnh mắc bệnh đái đường có biến chứng toan ceto, người bệnh nhịn đói lâu ngày, nôn mửa kéo dài, trong một vài trường hợp ngộ độc.

### **4. Máu**

- Bình thường không có hồng cầu trong nước tiểu.
- Dương tính và hồng cầu còn nguyên: Sỏi thận, lao thận, ung thư thận, viêm thận.
- Dương tính và hồng cầu đã vỡ: tan máu như sốt rét, vàng da do tan máu, ngộ độc photpho...

### **5. Bilirubin (Sắc tố mật)**

- Bình thường Bilirubin không có mật trong nước tiểu.
- Dương tính: có tổn thương của gan hoặc đường dẫn mật.

### **6. Urobilinogen**

- Bình thường có ít trong nước tiểu.
- Tăng: bệnh gan hoặc tan huyết
- Nếu tắc mật hoàn toàn thì không có Urobilinogen trong nước tiểu.

### **7. Protein niệu**

- Bình thường nước tiểu có chứa một lượng nhỏ Protein không đủ tạo ra phản ứng dương tính trên giấy thử.
- Dương tính: bệnh thận, nhiễm trùng tiết niệu, THA, ngộ độc thai nghén, suy tim xung huyết.

### **8. Đường niệu**

- Bình thường không có Glucose trong nước tiểu.
- Dương tính: ĐTD, Stress, Viêm tụy cấp, Cushing, sau gây mê...

### **9. Nitrit**

- Bình thường không có trong nước tiểu
- Dương tính: nhiễm trùng tiết niệu

## **10. Bạch cầu**

Dương tính: nhiễm trùng bàng quang hay thận.

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Trước phân tích**

Nước tiểu của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## C. DỊCH NÃO TỦY

### 204. ĐỊNH LƯỢNG CLO

#### I. NGUYÊN LÝ

Định lượng Clo dịch não tủy bằng phương pháp điện cực chọn lọc.

#### II. CHUẨN BỊ

##### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

##### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,...

##### 2.2. Hóa chất

- Điện cực chuẩn

- Điện cực Clo.

Hóa chất được bảo quản ở 25- 30<sup>0</sup>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

Dịch não tủy. Dịch não tủy; bảo quản ở 2 – 8<sup>0</sup>C.

##### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm Clo.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

#### IV. Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm Clo theo chương trình của máy.

##### 1. Tiến hành chuẩn Clo.

2. Kiểm tra chất lượng xét nghiệm Clo. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

3. Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng dịch não tủy và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.



4. Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
5. Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

## **V. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Giá trị tham chiếu**

Clo: 120-130 mmol/L

### **2. Tăng bệnh lý**

Một số bệnh thần kinh trung ương, các trường hợp có Clorua huyết tương tăng.

### **3. Giảm bệnh lý**

Viêm màng não, động kinh

## **VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Trước phân tích**

Dịch não tủy của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 205. ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE

### I. NGUYÊN LÝ

Enzym UV (phương pháp hexokinase): Glucose bị phosphoryl hóa bởi ATP dưới tác dụng của enzyme hexokinase tạo glucose-6-phosphat. Glucose-6-phosphat phản ứng với NAD dưới tác dụng của glucose-6-phosphat dehydrogenase tạo gluconate-6-phosphat và  $\text{NADH} + \text{H}^+$ . Sự tăng mật độ quang được đo ở bước sóng 340 nm tỉ lệ với nồng độ glucose dịch não tủy trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Cán bộ xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

Máy phân tích sinh hóa tự động: MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

**Hóa chất:**

- ATP
- $\text{NAD}^+$
- Hexokinase
- G6P-DH
- Chất bảo quản
- Hóa chất được bảo quản ở  $2-8^{\circ}\text{C}$ . Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Dịch não tủy. Dịch não tủy, bảo quản ở  $2-8^{\circ}\text{C}$ .

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm glucose dịch não tủy.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm glucose dịch não tủy theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn glucose dịch não tủy.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm glucose dịch não tủy. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng dịch và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Giá trị tham chiếu: 2,2 -3,9 mmol/L.**

##### **2. Glucose dịch não tủy tăng trong**

- Đái tháo đường
- Viêm não, các u não, xuất huyết não
- Động kinh, co giật

##### **3. Glucose dịch não tủy giảm trong**

- Viêm màng não mủ do màng não cầu khuẩn, phế cầu khuẩn, liên cầu khuẩn.
- Viêm màng não do lao.
- Hạ đường máu

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

- Dịch não tủy của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.
- Mẫu bệnh phẩm phải được phân tích sớm ngay sau khi lấy mẫu.
- Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; Nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 206. PHẢN ỨNG PANDY

### I. NGUYÊN LÝ

Globulin phân tử lớn (globulin miễn dịch) bị kết tủa bởi dung dịch phenol bão hòa

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### Hóa chất

- Dung dịch phenol bão hòa
- Hóa chất được bảo quản ở 25 - 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

- Dịch não tủy.
- Dịch não tủy, bảo quản ở 2 - 8°C.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất phenol bão hòa.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cho vào ống nghiệm 1 ml Phenol bão hòa, dùng pipet hút DNT và nhỏ vào ống nghiệm 1 giọt:
- Nếu hỗn hợp dịch não tủy - phenol vẫn giữ nguyên màu trong suốt thì kết quả âm tính.
- Nếu có hiện tượng tủa khối trắng thì có kết quả dương tính.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

#### 1. Trị số bình thường: Âm tính

#### 2. Phản ứng Pandy dương tính trong

- Có rối loạn hàng rào máu - não nặng nề (viêm màng não vi khuẩn, viêm màng não lao, hội chứng Guillain - Berré, u tủy, u góc cầu tiểu não);
- Rối loạn hàng rào máu - não mức độ vừa kèm theo tình trạng tăng - globulin trong máu (trong thoát vị đĩa đệm, bệnh Waldestrom).

- Tăng tổng hợp globulin miễn dịch trong khoang dịch não tủy (trong liệt tiến triển, đa lymphome màng não).

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Trước phân tích**

Dịch não tủy của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

### **2. Trong phân tích**

Dung dịch phenol bão hòa phải được pha đúng theo tiêu chuẩn, trong suốt, không bị vẩn đục.

### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; Nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 207. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN

### I. NGUYÊN LÝ

Phức hợp pyrogallol đỏ - molybdate gắn với nhóm amino của phân tử protein dịch não tủy tạo thành phức chất màu xanh tím có mật độ quang cực đại ở bước sóng 600nm. Mật độ quang tỉ lệ với nồng độ protein dịch não tủy trong mẫu bệnh phẩm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Máy phân tích sinh hóa tự động

MODULAR P800, COBAS 6000, AU 2700,....

##### 2.2. Hóa chất

- Sodium molybdate
- Succinic acid
- Sodium benzoate
- Sodium oxalate
- Methanol

Hóa chất được bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C, tránh ánh sáng trực tiếp. Hạn sử dụng: theo ngày ghi trên hộp.

#### 3. Người bệnh

Cần được tư vấn về mục đích xét nghiệm

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Dịch não tủy, dịch chọc dò. Dịch não tủy, dịch chọc dò, bảo quản ở 2 - 8<sup>0</sup>C.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng xét nghiệm protein dịch não tủy.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cài đặt chương trình, các thông số kỹ thuật xét nghiệm protein dịch não tủy theo chương trình của máy.
- Tiến hành chuẩn protein dịch não tủy.
- Kiểm tra chất lượng xét nghiệm protein dịch não tủy. Nếu kết quả kiểm tra chất lượng đạt (không vi phạm các luật kiểm tra chất lượng): tiến hành thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu kết quả vi phạm vào luật kiểm tra chất lượng: chuẩn lại máy và kiểm tra chất lượng lại.

- Phân tích mẫu bệnh phẩm của người bệnh theo chương trình của máy. Nếu kết quả vượt quá ngưỡng tuyến tính của máy: hòa loãng dịch và tiến hành phân tích lại trên mẫu hòa loãng, kết quả nhân với độ hòa loãng.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

**- Trị số bình thường: < 0.45 g/L**

**- Protein dịch não tủy tăng trong**

- + Viêm màng não, lao màng não
- + Hội chứng Guillain-Barre’.
- + Chèn ép tủy sống

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

##### **1. Trước phân tích**

Dịch não tủy, dịch chọc dò của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

##### **2. Trong phân tích**

Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

##### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; Nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, kết quả kiểm tra chất lượng máy, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## **D. THỦY DỊCH MẮT**

### **208. ĐỊNH LƯỢNG ALBUMIN**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Định lượng Albumin trong thủy dịch theo phương pháp so màu

pH= 4.1

Albumin + BCG  $\Rightarrow$  Albumin BCG complex

Phức hợp Albumin BCG có màu xanh tỷ lệ thuận với nồng độ Albumin trong mẫu thử được đo ở bước sóng 570 nm.

#### **II. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Albumin, chất chuẩn Albumin, chất kiểm tra chất lượng Albumin.

##### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy thủy dịch để làm xét nghiệm.

##### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

#### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

##### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy thủy dịch vào ống không có chất chống đông

##### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Albumin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Albumin.



Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Albumin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo chương trình của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: Hầu như không có Albumin trong thủy dịch mắt
- Khi xuất hiện Albumin là có bệnh lý về viêm nhiễm....

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

## **209. ĐỊNH LƯỢNG GLOBULIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Định lượng Globulin trong thủy dịch bằng cách tính toán dựa trên thông số về định lượng Protein toàn phần và Albumin.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học, 01 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640....
- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Protein toàn phần và Albumin, chất chuẩn Protein toàn phần và Albumin, chất kiểm tra chất lượng Protein toàn phần và Albumin.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy thủy dịch để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh và ghi rõ chỉ định xét nghiệm

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

Lấy thủy dịch vào ống không có chất chống đông

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Protein và Albumin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Protein toàn phần và Albumin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Protein toàn phần và Albumin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đọc máy phân tích mẫu theo chương trình của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh. Kết quả nếu không được máy tự động tính toán thì tính theo công thức sau:

$\text{Globulin} = \text{Protein toàn phần} - \text{Albumin}$

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Trị số bình thường: Hầu như không có globulin trong thủy dịch mắt
- Khi có globulin là có bệnh lý viêm nhiễm xảy ra như viêm mống mắt, viêm màng bồ đào...

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

Là những sai sót có thể gặp phải khi định lượng Protein toàn phần và Albumin

## **E. DỊCH CHỌC DỒ ( Dịch màng bụng, màng phổi, màng tim....)**

### **210. ĐO HOẠT ĐỘ AMYLASE**

#### **I. NGUYÊN LÝ**

Amylase thủy phân 2-chloro-4-nitrophenyl-maltotriosid (CNPG<sub>3</sub>) thành 2-chloro-4-nitrophenol (CNP), 2-chloro-4-nitrophenyl-maltodiosid và glucose (G):

Amylase



Sự giải phóng của CNP từ cơ chất và sự tăng độ hấp thụ ở bước sóng 415 nm của nó tỷ lệ thuận với hoạt độ Amylase trong mẫu thử.

#### **II. CHUẨN BỊ**

##### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành xét nghiệm hóa sinh.

##### **2. Phương tiện, hóa chất**

Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...

Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).

Kit thuốc thử amylase (hãng Becman coulter)

##### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về việc làm xét nghiệm.

##### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Xác định hoạt độ Amylase trong dịch

#### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

##### **1. Lấy bệnh phẩm**

Định lượng Amylase các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

##### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Cho vào 3 ống nghiệm

|                  | <b>Ống trắng</b> | <b>Ống chuẩn</b> | <b>Ống thử</b> |
|------------------|------------------|------------------|----------------|
| <b>Thuốc thử</b> | 1 ml             | 1 ml             | 1 ml           |
| <b>Nước cất</b>  | 10 µl            |                  |                |
| <b>Chuẩn</b>     |                  | 10 µl            |                |
| <b>Mẫu thử</b>   |                  |                  | 10 µl          |

Lắc đều, ủ 37<sup>0</sup>C trong 5 phút hoặc 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang học ở bước sóng 340 nm so với ống chuẩn để tính kết quả.

Tính kết quả: Nồng độ ống mẫu :

$$C_U = OD_U / OD_S * C_S \text{ (U/l)}$$

OD<sub>U</sub> là mật độ hấp thu của ống mẫu

OD<sub>S</sub> là mật độ hấp thu của ống chuẩn

C<sub>U</sub> là hoạt độ Amylase mẫu

C<sub>S</sub> là hoạt độ Amylase chuẩn

Chú ý: Có thể tiến hành trên máy bán tự động Stat Fax đã cài đặt chương trình như trên. Khi làm, đo mật độ quang của ống trắng trước. Sau đó đưa vào ống chuẩn máy sẽ tự động đo và tính ra hệ số. Tiếp đó đưa theo thứ tự các ống thử vào máy sẽ tự động đo và tính ra kết quả hiện trên máy hoặc in ra giấy.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Giá trị tham khảo: Chưa có giá trị tham khảo hoạt độ amylase trong dịch

- Hoạt độ amylase huyết thanh: < 220 U/l

- Hoạt độ amylase nước tiểu: < 1000 U/l

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

## **211. ĐỊNH LƯỢNG NỒNG ĐỘ BILIRUBIN TOÀN PHẦN VÀ TRỰC TIẾP**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Bilirubin trong dịch chọc dò kết hợp với thuốc thử diazo (acid sulfanilic được diazo hóa) tạo thành phức hợp azobilirubin có màu hồng. Để định lượng bilirubin toàn phần, dùng cafein để tách bilirubin gián tiếp ra khỏi albumin.

Thuốc thử diazo trên có thể gây kết tủa protein làm ảnh hưởng đến mật độ quang. Cho nên, ngày nay người ta có thể thay bằng 2,4 - diClooanilin được diazo hóa hoặc 2,5-dichlorophenyl diazonium tetrafluoroborat (DPD).

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Bác sĩ và kỹ thuật viên được đào tạo chuyên ngành xét nghiệm hóa sinh.

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Thuốc thử Erhlich I.
- Thuốc thử Erhlich II.
- Dung dịch  $\text{NaNO}_2$  0,5%.
- Acid  $\text{HCl}$  1,5%.
- Thuốc thử diazo pha trước khi dùng.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh cần được giải thích về việc cần thiết làm xét nghiệm

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ Bilirubin toàn phần hoặc trực tiếp.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

Định lượng Bilirubin các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Cho vào 4 ống nghiệm loại 10 ml:

|                 | Ống chuẩn | Bilirubin toàn phần |         | Bilirubin trực tiếp |         |
|-----------------|-----------|---------------------|---------|---------------------|---------|
|                 |           | Ống trắng           | Ống thử | Ống trắng           | Ống thử |
| Bệnh phẩm       | -         | 0,25 ml             | 0,25 ml | 0,25 ml             | 0,25 ml |
| Nước cất        | 1,5 ml    | 1,5 ml              | 1,5 ml  | 2,0 ml              | 2,0 ml  |
| Dung dịch chuẩn | 0,25 ml   | -                   | -       | -                   | -       |
| Erhlich I       | 0,5 ml    | 0,5 ml              | 0,5 ml  | -                   | -       |
| Thuốc thử diazo | 0,25 ml   | -                   | 0,25 ml | -                   | 0,25 ml |
| HClO 1,5%       | -         | 0,25 ml             | -       | 0,25 ml             | -       |

Lắc đều để yên 6 - 10 phút, đo màu ở bước sóng 546 nm.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

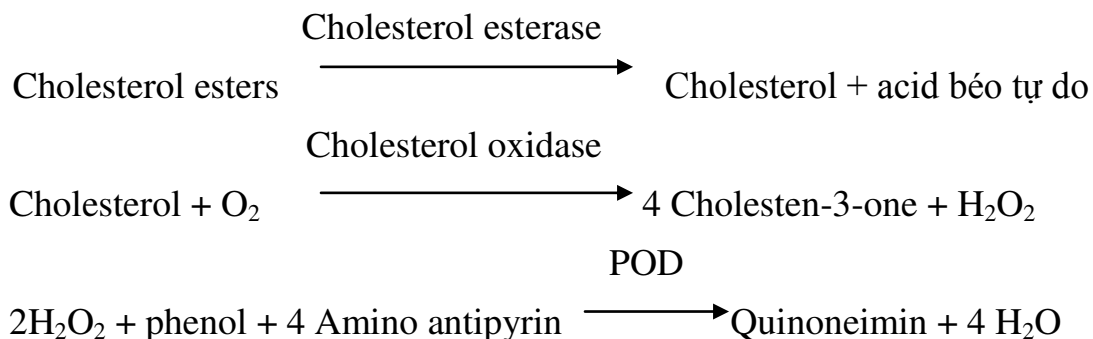
Bình thường không có bilirubin trong các dịch chọc dò. Khi xuất hiện có thể nghĩ đến hội chứng vàng da.

#### VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

## 212. ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN

### I. NGUYÊN LÝ

Cholesterol ester có trong dịch chọc dò được chuyển thành cholesteron và  $H_2O_2$  do các enzym cholesterol esterase xúc tác. Sau đó cholesteron bị oxy hoá tạo thành  $H_2O_2$  và cholestentriol.  $H_2O_2$  kết hợp với chất hiện màu nhờ tác dụng của enzym peroxidase để chuyển thành hợp chất có màu đỉnh hấp thụ cực đại ở 532 nm.



### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...

Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).

Kit của hãng Beckman coulter.

*R1: Buffer (dung dịch đệm)*

Phosphate buffer (pH = 6.5), Chloro - 4 - phenol

Sodium Cholate, Triton

*R2: Enzyme*

Cholesterol oxydase (CO)

Cholesterol esterase (CE)

Peroxidase (POD)

4 - amino - antipyrin (PAP)

*R3: Standard*

Cholesterol 200 mg/dL (5,17 mmol/l).



### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được tư vấn trước khi làm xét nghiệm.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ cholesterol.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

Dịch chọc dò

### 2. Tiến hành kỹ thuật

Cho vào 3 ống nghiệm

|                          | Ống trắng | Ống chuẩn | Ống thử |
|--------------------------|-----------|-----------|---------|
| <b>Thuốc thử</b>         | 1 ml      | 1 ml      | 1 ml    |
| <b>Nước cất</b>          | 10 µl     |           |         |
| <b>Chuẩn Cholesterol</b> |           | 10 µl     |         |
| <b>Mẫu thử</b>           |           |           | 10 µl   |

Lắc đều, ủ 37°C trong 5 phút hoặc 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang học ở bước sóng = 500 nm (480 – 520 nm) so với ống chuẩn để tính kết quả.

Tính kết quả: Nồng độ ống mẫu :

$$C_U = OD_U / OD_S * C_S \text{ (mg/dL hoặc mmol/l)}$$

$OD_U$  là mật độ hấp thu của ống mẫu

$OD_S$  là mật độ hấp thu của ống chuẩn

$C_U$  là nồng độ Cholesterol mẫu

$C_S$  là nồng độ Cholesterol chuẩn

## VI. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường không có cholesterol toàn phần trong dịch chọc dò

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ.

## 213. ĐỊNH LƯỢNG CREATININ

### I. NGUYÊN LÝ

Creatinin tác dụng với acid picric trong môi trường kiềm tạo thành phức hợp picratcreatinin (có màu vàng da cam). Cường độ màu tỷ lệ thuận với nồng độ creatinin. Đo mật độ quang học, so với mẫu chuẩn để tính toán kết quả.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...
- Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).
- Huyết thanh, huyết tương hoặc máu toàn phần.
- Nước tiểu pha loãng 50 (1+49) lần bằng nước cất.
- Các dung dịch creatinin chuẩn, có nồng độ 177, 354, 530, 707  $\mu\text{mol/l}$ .
- Dung dịch Na-tungstat 10%.
- Dung dịch  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . 2/3N.
- Dung dịch Picrat-kiềm: chỉ pha khi dùng

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc cần thiết phải làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ creatinin.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng creatinin các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- *Đối với dịch màng bụng, dịch chọc dò có nồng độ protein >30g/l.*

+ *Khử tạp*: cho vào 2 ống nghiệm nhỏ:

| Thuốc thử                                  | Ống chuẩn (S) | Ống thử (S) |
|--------------------------------------------|---------------|-------------|
| Nước cất                                   | 3,5 ml        | 3,5 ml      |
| D.d. creatinin chuẩn 177 $\mu\text{mol/l}$ | 0,5 ml        | 0 ml        |
| Huyết thanh                                | 0 ml          | 0,5 ml      |
| D.d. Na-tungstat 10%                       | 0,5 ml        | 0,5 ml      |
| D.d. $\text{H}_2\text{SO}_4$ 2/3N          | 0,5 ml        | 0,5 ml      |

Trộn đều. Ly tâm 3000 vòng trong 5 phút. Lấy dịch trong.

+ *Phản ứng*: Cho vào 3 ống nghiệm to:

| Thuốc thử                | Ống trắng (B) | Ống chuẩn (S) | Ống thử (T) |
|--------------------------|---------------|---------------|-------------|
| Nước cất                 | 2 ml          | 0 ml          | 0 ml        |
| Dịch trong của ống chuẩn | 0 ml          | 2 ml          | 0 ml        |
| Dịch trong của ống thử   | 0 ml          | 0 ml          | 2 ml        |
| D.d. Picrat-kiềm         | 1 ml          | 1 ml          | 1 ml        |

Trộn đều. Để yên 20 phút.

Đo quang ở bước sóng 520 nm, đối chiếu với ống trắng, được mật độ quang học của ống chuẩn (Es) và của ống thử (ET).

Tính kết quả theo công thức:

$$\text{Nồng độ creatinin } (\mu\text{mol/l}) = \frac{E_T}{E_S} \cdot C_S$$

Giá trị tham khảo: Bình thường không có creatinin trong dịch chọc dò

### 3. Cách pha thuốc thử

- Na-tungstat 10%:

Cân 100 g Na-tungstat,  $\text{Na}_2\text{WO}_4$ , cho vào bình định mức 1 lít đã có sẵn khoảng 800 ml nước cất. Hoà tan và hoàn thành 1 lít bằng nước cất. Trộn đều.

-  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . 2/3N:

Cho từ từ 19 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  p.a đậm đặc vào bình định mức 1 lít đã có khoảng 700 ml nước cất. Hoàn thành 1 lít bằng nước cất và trộn đều. Chuẩn độ lại bằng NaOH 1N với chỉ thị phenophtalein. Nếu quá acid thì điều chỉnh bằng pha loãng. Chú ý: lấy  $\text{H}_2\text{SO}_4$  phải chính xác và thận trọng.

- D.d. acid picric bão hoà:

Đun đến sôi 1 lít nước cất trong một bình nón hoặc cốc có mỏ. Ngừng đun và cho thêm 11,75 g acid picric; để nguội đến nhiệt độ phòng; lọc. Đựng trong chai thủy tinh màu nâu có nút.

Chú ý: Pha dung dịch ở chỗ xa ngọn lửa để đề phòng acid picric cháy và gây nổ.

- D.d. NaOH 10%:

Cho 100 g NaOH vào bình định mức đã có khoảng 800 ml nước cất. Hoà tan. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Hoàn thành 1 lít bằng nước cất và trộn đều.

- Dung dịch Pirat-Kiểm: Pha khi dùng

D.d. acid picric bão hoà 5 thể tích.

D.d. NaOH 10%: 1 thể tích.

Trộn đều.

- D.d. HClO 0,1N:

Cho từ từ 8,4 ml HClO p.a đậm đặc vào bình định mức đã có khoảng 700ml nước cất. Hoàn thành 1 lít bằng nước cất và trộn đều.

- D.d. creatinin chuẩn gốc 1mg/ml (8850  $\mu$ mol/l):

Cho 100 mg creatinin p.a vào bình định mức 100 ml. Hoà tan và hoàn thành 100 ml bằng D.d. HClO 0,1N. Đựng trong chai nhựa.

- Các Dung dịch creatinin chuẩn làm việc có nồng độ 177, 354, 530, 707  $\mu$ mol/l:

Pha từ D.d. creatinin chuẩn gốc, trong bình định mức 100 ml, theo bảng sau:

| D.d.creatinin chuẩn làm việc        | D.d.creatinin chuẩn gốc | D.d. HClO 0,1N |
|-------------------------------------|-------------------------|----------------|
| D.d.creatinin chuẩn 177 $\mu$ mol/l | 2 ml                    | Vừa đủ 100 ml  |
| D.d.creatinin chuẩn 350 $\mu$ mol/l | 4 ml                    | Vừa đủ 100 ml  |
| D.d.creatinin chuẩn 530 $\mu$ mol/l | 6 ml                    | Vừa đủ 100 ml  |
| D.d.creatinin chuẩn 707 $\mu$ mol/l | 8 ml                    | Vừa đủ 100 ml  |

#### IV/ NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Creatinin máu và nước tiểu, urê máu và nước tiểu, ion đồ máu và nước tiểu là những thông số hóa sinh quan trọng đánh giá mức độ suy thận suy thận, tuy nhiên khi có mặt creatinin trong dịch chọc dò hướng tới các vấn đề về ngoại khoa.

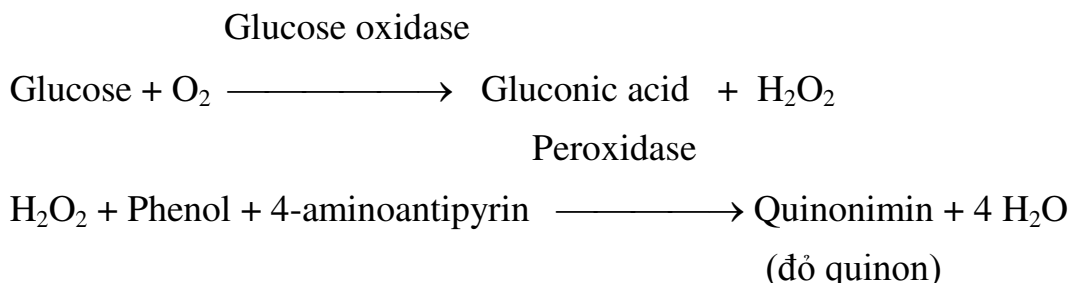
#### VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

## 214. ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE

### I. NGUYÊN LÝ

Theo phương pháp enzym quang học (GOD- PAP):

Xác định nồng độ glucose sau khi oxy hoá glucose bằng glucooxidase (GOD), peroxide hydrogen được tạo thành tác dụng với 4-aminoantipyrin và phenol nhờ xúc tác của peroxidase (POD) tạo phức hợp màu quinoimin, theo các phản ứng sau:



Đo mật độ quang ở bước sóng 546 nm, so với glucose chuẩn sẽ tính được kết quả.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Thuốc thử và chất thử:

+ Thuốc thử: loại thuốc thử của hãng Human, thành phần gồm có:

+ Đệm phosphat (pH = 7,5)                      250 mmol/l.

+ Phenol                                              5 mmol/l.

+ 4-aminoantipyrin                              0,5 mmol/l.

+ Glucooxidase (GOD)                           $\geq 10$  kU/l.

+ Dung dịch glucose chuẩn                      5,55 mmol/l (1g/l).

- Chất thử: huyết thanh, huyết tương chống đông bằng Heparin hoặc EDTA.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc cần thiết làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi,

mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ glucose.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng glucose các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Tiến hành trên máy 4010”

+ Đặt chế độ máy: chương trình C/St.

Bước sóng 500 nm hoặc 546 nm.

Nhiệt độ 20, 25°C hoặc 37°C.

Hệ số (F): 5,55.

- Cách tiến hành: cho thuốc thử vào 3 ống nghiệm nhỏ theo bảng sau:

| Thuốc thử          | Ống trắng (-) | Ống chuẩn (S) | Ống thử (T) |
|--------------------|---------------|---------------|-------------|
| Thuốc thử          | 1 ml          | 1 ml          | 1 ml        |
| H <sub>2</sub> O   | 10 µl         | -             | -           |
| D. d glucose chuẩn | -             | 10 µl         | -           |
| Bệnh phẩm          | -             | -             | 10 µl       |

Trộn đều, ủ 20 phút/20 - 25°C hoặc 10 phút/37°C.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường không có glucose trong các dịch chọc dò

### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

## 215. ĐO HOẠT ĐỘ LDH (Lactat dehydrogenase)

### I. NGUYÊN LÝ

LDH được đo dựa theo phản ứng:

*LDH*

Acid Pyruvic + NADH<sub>2</sub> -----> Acid Lactic + NAD<sup>+</sup>

Hoạt độ LDH được đo bằng sự giảm theo thời gian của NADH<sub>2</sub> ở bước sóng 340nm.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...

Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).

Kit thuốc thử LDH (hãng Beckman coulter)

Thuốc thử R1: Đệm pH7,5

- Phosphat : 50 mmol/l
- Acid Pyruvic: 0,6 mmol/l
- Thuốc thử R2: Cơ chất NADH<sub>2</sub> : 0,18 mmol/l

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc cần làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Xác định hoạt độ LDH

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng LDH các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

## 2. Tiến hành kỹ thuật

Pha thuốc thử R1 và R2 theo tỷ lệ 1:1. Cho vào 3 ống nghiệm

|                  | Ống trắng | Ống chuẩn | Ống thử |
|------------------|-----------|-----------|---------|
| <b>Thuốc thử</b> | 1 ml      | 1 ml      | 1 ml    |
| <b>Nước cất</b>  | 10 µl     |           |         |
| <b>Chuẩn</b>     |           | 10 µl     |         |
| <b>Mẫu thử</b>   |           |           | 10 µl   |

Lắc đều, ủ 37<sup>0</sup>C trong 5 phút hoặc 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang học ở bước sóng 340 nm so với ống chuẩn để tính kết quả.

Tính kết quả: Nồng độ ống mẫu :

$$C_U = OD_U / OD_S * C_S \text{ (U/l)}$$

OD<sub>U</sub> là mật độ hấp thu của ống mẫu

OD<sub>S</sub> là mật độ hấp thu của ống chuẩn

C<sub>U</sub> là hoạt độ LDH mẫu

C<sub>S</sub> là hoạt độ LDH chuẩn

Chú ý: Có thể tiến hành trên máy bán tự động cài đặt chương trình với các thông số như trên. Khi làm, đo mật độ quang của ống trắng trước. Sau đó đưa vào ống chuẩn máy sẽ tự động đo và tính ra hệ số. Tiếp đó đưa theo thứ tự các ống thử vào máy sẽ tự động đo và tính ra kết quả hiện trên máy hoặc in ra giấy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường không có LDH trong dịch chọc dò

## VI. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

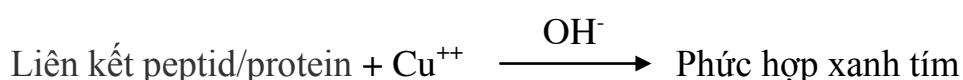


## 216. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN TOÀN PHẦN (Phương pháp Gornal)

### I. NGUYÊN LÝ

Các liên kết peptid trong phân tử protein kết hợp với ion  $\text{Cu}^{++}$  trong môi trường kiềm tạo thành phức hợp màu xanh tím. Cường độ màu xanh tỷ lệ với nồng độ protein (số lượng liên kết peptid) có trong huyết thanh. Đo mật độ quang học so với chuẩn tính được kết quả.

Phản ứng xảy ra như sau:



Độ nhạy: Xét nghiệm chính xác ở nồng độ protein từ 2 - 120 g/l.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...
- Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).
- D.d. protein chuẩn ( $C_s = 60$  g/l).
- D.d. NaCl 0,9%.
- Thuốc thử Gornall.

Kali và Natri tartate trong thuốc thử Gornall có vai trò ngăn cản sự kết tủa của đồng hydroxide đồng thời Kali iodua ngăn cản phản ứng tự khử của ion đồng.

#### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được nhịn ăn 8 - 12 giờ trước khi lấy máu.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ protein toàn phần.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng protein toàn phần các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

Cho vào 3 ống nghiệm

|                      | Ống trắng | Ống chuẩn | Ống thử |
|----------------------|-----------|-----------|---------|
| <b>Thuốc thử</b>     | 1 ml      | 1 ml      | 1 ml    |
| <b>Nước cất</b>      | 10 µl     |           |         |
| <b>Protein chuẩn</b> |           | 10 µl     |         |
| <b>Mẫu thử</b>       |           |           | 10 µl   |

Lắc đều, ủ 37°C trong 5 phút hoặc 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang học ở bước sóng 546 nm, so với ống chuẩn để tính kết quả.

Tính kết quả: Nồng độ ống mẫu :

$$C_U = OD_U / OD_S * C_S \text{ (g/l)}$$

$OD_U$  là mật độ hấp thu của ống mẫu

$OD_S$  là mật độ hấp thu của ống chuẩn

$C_U$  là nồng độ protein toàn phần mẫu

$C_S$  là nồng độ protein toàn phần chuẩn

Chú ý: Có thể tiến hành trên máy bán tự động đã cài đặt chương trình như trên. Khi làm, đo mật độ quang của ống trắng trước. Sau đó đưa vào ống chuẩn máy sẽ tự động đo và tính ra hệ số. Tiếp đó đưa theo thứ tự các ống thử vào máy sẽ tự động đo và tính ra kết quả hiện trên máy hoặc in ra giấy.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Bình thường không có protein trong dịch chọc dò. Nồng độ protein < 30g/L hướng tới dịch thấm, nồng độ protein > 30g/L hướng tới dịch tiết.

### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

## 217. PHẢN ỨNG RIVALTA

### I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên phản ứng Protein bị kết tủa bởi acid acetic.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**Hóa chất:**

Dung dịch acid acetic đặc.

Hóa chất được bảo quản ở 25 - 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

Dịch chọc dò.

Dịch chọc dò, bảo quản ở 2 – 8°C.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất acid cetic đặc.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Cho vào ống đong 100 ml nước cất.
- Nhỏ vào đó 1 giọt acid acetic đặc rồi trộn đều.
- Dùng pipet hút dịch chọc dò và nhỏ vài giọt vào dung dịch vừa pha và quan sát:
  - + Nếu thấy hiện tượng tủa khối trắng khi giọt dịch rơi xuống đáy cốc thì phản ứng Rivalta(+), tức là dịch đó là dịch tiết và kết quả định lượng protein dịch chọc dò thường trên 30g/L. Dịch này gặp trong các trường hợp do viêm.
  - + Nếu không có hiện tượng trên thì phản ứng Rivalta (-) và dịch đó thường là dịch thấm và lượng protein thường dưới 30 g/L, gặp trong các bệnh xơ gan, hội chứng thận hư.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

#### 1. Phản ứng Rivalta dương tính trong

Dịch tiết: dịch được hình thành trong cơ chế viêm.

## **2. Phản ứng Rivalta âm tính trong**

Dịch thấm: dịch thấm là dịch được tạo thành do sự chênh lệch áp lực giữa dịch trong lòng mạch và ngoài gian bào (hội chứng tăng áp lực tĩnh mạch cửa, suy tim phải), do giảm áp lực keo (hội chứng thận hư, đói ăn, bông nặng), hoặc cả 2 yếu tố trên (trong xơ gan).

## **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

### **1. Trước phân tích**

Dịch chọc dò của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

### **2. Trong phân tích**

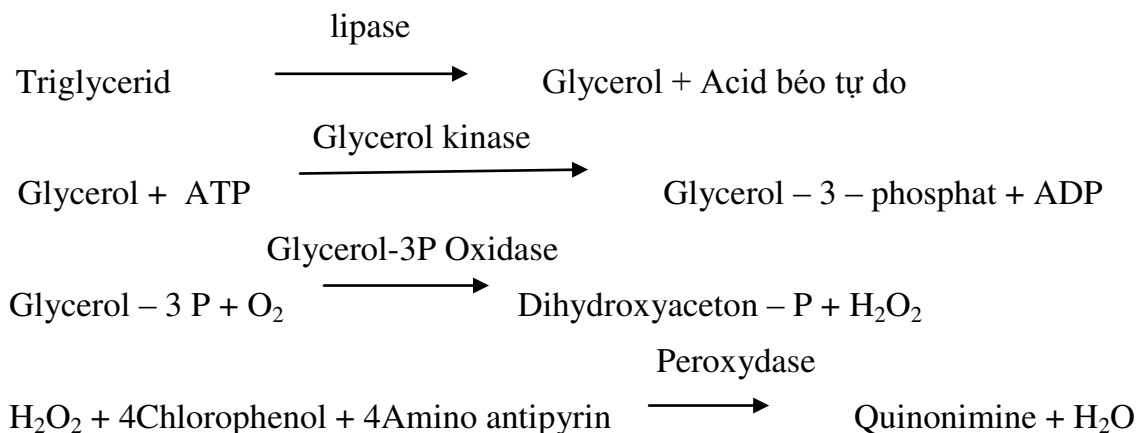
Dung dịch acid acetic đặc phải được pha đúng theo tiêu chuẩn, trong suốt, không bị vẩn đục.

### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 218. ĐỊNH LƯỢNG TRIGLYCERID

### I. NGUYÊN LÝ



### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...
- Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).
- Kit của hãng Human.

+ Thuốc thử

R1: BUFFER

Chloro – 4 – phenol

Magnesium Chlorid

R2: ENZYM

Lipase

Peroxidase

Glycerol – 3 phosphat oxidase

Glycerol kinase

4 – amino – antipyrin

ATP

R3: Standard

Dung dịch Triglycerid chuẩn: 200mg/dL(2.28 mmol/l)

*Working solution:* R1 + R2, lắc cho tan đều để ổn định 10 phút, bèn 30 ngày 4°C, đựng trong chai nâu.

### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc cần làm xét nghiệm.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ triglycerid.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

Dịch chọc dò cần ly tâm thu lấy dịch trong để định lượng.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

Cho vào 3 ống nghiệm

|                          | Ống trắng | Ống chuẩn | Ống thử |
|--------------------------|-----------|-----------|---------|
| <b>Thuốc thử</b>         | 1 ml      | 1 ml      | 1 ml    |
| <b>Nước cất</b>          | 10 µl     |           |         |
| <b>Triglycerid chuẩn</b> |           | 10 µl     |         |
| <b>Mẫu thử</b>           |           |           | 10 µl   |

Lắc đều, ủ 37°C trong 5 phút hoặc 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang học ở bước sóng = 500 nm (480 – 520 nm) so với ống chuẩn để tính kết quả.

Tính kết quả: Nồng độ ống mẫu :

$$C_U = OD_U / OD_S * C_S \text{ (mg/dL hoặc mmol/l)}$$

OD<sub>U</sub> là mật độ hấp thu của ống mẫu

OD<sub>S</sub> là mật độ hấp thu của ống chuẩn

C<sub>U</sub> là nồng độ Triglycerid mẫu

C<sub>S</sub> là nồng độ Triglycerid chuẩn

Chú ý: Có thể tiến hành trên máy bán tự động, cài đặt chương trình như trên. Khi

làm, đo mật độ quang của ống trắng trước. Sau đó đưa vào ống chuẩn máy sẽ tự động đo và tính ra hệ số. Tiếp đó đưa theo thứ tự các ống thử vào máy sẽ tự động đo và tính ra kết quả hiện trên máy hoặc in ra giấy.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Bình thường không có Triglycerid trong dịch chọc dò, khi xuất hiện thường hướng tới hiện tượng vỡ bạch mạch do giun chỉ.

#### **V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ**

## 219. ĐO TỈ TRỌNG DỊCH CHỌC DÒ (Bằng máy tự động)

### I. NGUYÊN LÝ

Khúc xạ kế.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Nhân viên xét nghiệm khoa Hóa sinh.

#### 2. Phương tiện, hóa chất

**2.1. Máy phân tích nước tiểu tự động:** Urisys 2400, Siemen, ....

#### 2.2. Hóa chất

- Urisys 2400 cassette

Hóa chất được bảo quản ở 25- 30<sup>0</sup>C.

#### 3. Người bệnh

Dịch chọc dò; bảo quản ở 2 - 8<sup>0</sup>C.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

Thực hiện theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Dịch chọc dò.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1 Chuẩn bị hóa chất

Chuẩn bị hóa chất.

##### 2.2. Tiến hành kỹ thuật

- Dịch chọc dò được phân tích trên máy theo chương trình của máy.
- Kết quả sau khi được đánh giá sẽ được chuyển vào phần mềm quản lý dữ liệu hoặc vào sổ lưu kết quả (tùy thuộc vào điều kiện của phòng xét nghiệm).
- Trả kết quả cho khoa lâm sàng, cho người bệnh

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

#### Tỉ trọng:

Bình thường tỷ trọng dịch chọc dò 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.

### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

#### 1. Trước phân tích

Dịch chọc dò của người bệnh phải lấy đúng kỹ thuật, không lẫn máu, mủ.

Trên dụng cụ đựng mẫu bệnh phẩm phải ghi đầy đủ các thông tin của người bệnh (tên, tuổi, địa chỉ, khoa/ phòng, số giường...). Các thông tin này phải khớp với các thông tin trên phiếu chỉ định xét nghiệm. Nếu không đúng: hủy và lấy lại mẫu.

#### 2. Trong phân tích



Mẫu bệnh phẩm của người bệnh chỉ được thực hiện khi kết quả kiểm tra chất lượng không vi phạm các luật của quy trình kiểm tra chất lượng; nếu không, phải tiến hành chuẩn và kiểm tra chất lượng lại, đạt mới thực hiện xét nghiệm cho người bệnh; nếu không đạt: tiến hành kiểm tra lại các thông số kỹ thuật của máy, sửa chữa hoặc thay mới các chi tiết nếu cần. Sau đó chuẩn và kiểm tra chất lượng lại cho đạt.

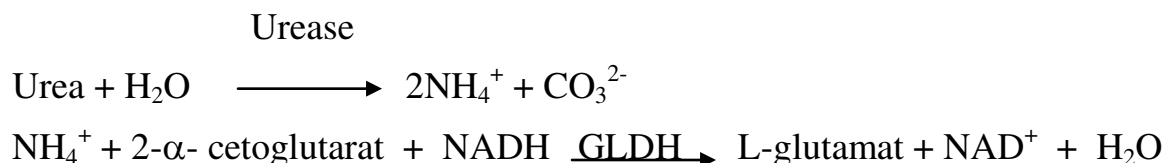
### **3. Sau phân tích**

Phân tích kết quả thu được với chẩn đoán lâm sàng, với kết quả các xét nghiệm khác của chính người bệnh đó; nếu không phù hợp, tiến hành kiểm tra lại: thông tin trên mẫu bệnh phẩm, chất lượng mẫu, phân tích lại mẫu bệnh phẩm đó.

## 220. ĐỊNH LƯỢNG URE

### I. NGUYÊN LÝ

Urê được thủy phân tạo thành amoniac và CO<sub>2</sub> nhờ urease xúc tác. Amoniacc tạo thành kết hợp với α-cetoglutarat và NADH thành glutamat và NAD<sup>+</sup> nhờ glutamatdehydrogenase (GLDH) xúc tác. Đo sự giảm mật độ quang của NADH ở bước sóng 340nm.



### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

Bác sĩ hoặc kỹ thuật viên được đào tạo về chuyên ngành xét nghiệm Hóa sinh

#### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy xét nghiệm bán tự động H5000, 4010, evolution...

- Máy tự động hoàn toàn AU 400, 640, 2700 (hãng Beckman coulter).

+ Chất thử: Huyết thanh, huyết tương chống đông bằng heparin, dịch màng phổi, dịch màng bụng, dịch não tủy, nước tiểu pha loãng 100 lần với nước cất (kết quả nhân với 100). Đối với dịch, nước tiểu cần ly tâm lấy dịch trong để định lượng.

+ Thuốc thử

- Thuốc thử 1 (R1) đã pha sẵn

Đệm tris (pH=7,8) : 120mmol/l

ADP : 750 mmol/l

Urease : > 40 KU

GLDH : > 0,4 KU

- Thuốc thử 2 (R2) đã pha sẵn

α-Cetoglutarat : 25 mmol/l

NADH : 1,2 mmol/l

Khi làm trộn lẫn R1 và R2 theo tỷ lệ hướng dẫn ghi trên hộp.

- Dung dịch urê chuẩn : 13,3 mmol/l (80 mg/dl).

### 3. Người bệnh

Người bệnh cần được giải thích về việc cần thiết làm xét nghiệm.

### 4. Phiếu xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ các thủ tục hành chính: họ tên người bệnh, tuổi, mã số người bệnh, khoa phòng, tên xét nghiệm chỉ định, khoảng tham chiếu, bác sĩ chỉ định xét nghiệm, ngày giờ lấy mẫu, người lấy mẫu, ngày giờ nhận mẫu bệnh phẩm, người nhận mẫu.

Ghi yêu cầu xét nghiệm: Định lượng nồng độ ure.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

Định lượng urê các dịch cần ly tâm thu lấy dịch trong thể định lượng.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

Cho vào các ống nghiệm cỡ 5ml các theo thứ tự như sau:

| Thuốc thử                                                                                | ống trắng    | ống chuẩn/thử |
|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|---------------|
| Dung dịch chuẩn/huyết thanh                                                              |              | 10 $\mu$ l    |
| Hỗn hợp thuốc thử                                                                        | 1000 $\mu$ l | 1000 $\mu$ l  |
| Trộn đều, đọc mật độ quang sau 30 giây (A1). Chính xác sau 60 giây đọc mật độ quang (A2) |              |               |

Cách tính kết quả:

$$\Delta A_{\text{chuẩn/thử}} = A2 - A1$$

$$C = \Delta A_{\text{thử}} / \Delta A_{\text{chuẩn}} \cdot 13,3 \text{ (mmol/l)}$$

Chú ý: Có thể tiến hành trên máy bán tự động Stat Fax đã cài đặt chương trình như trên. Khi làm, đo mật độ quang của ống trắng trước. Sau đó đưa vào ống chuẩn máy sẽ tự động đo và tính ra hệ số. Tiếp đó đưa theo thứ tự các ống thử vào máy sẽ tự động đo và tính ra kết quả hiện trên máy hoặc in ra giấy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Chưa có giá trị tham khảo về ure trong dịch chọc dò

## V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

**BỘ Y TẾ**

**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM**

**Độc lập - Tự do - Hạnh phúc**

Số: **7034** /QĐ-BYT

Hà Nội, ngày **21** tháng **11** năm 2018

**QUYẾT ĐỊNH**

**Về việc ban hành tài liệu**

**Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh**

**BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ**

Căn cứ Luật khám bệnh, chữa bệnh năm 2009;

Căn cứ Nghị định 75/2017/NĐ-CP ngày 20 tháng 6 năm 2017 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Xét Biên bản họp ngày 15 tháng 8 năm 2018 của Hội đồng nghiệm thu Hướng dẫn Quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh của Bộ Y tế;

Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh,

**QUYẾT ĐỊNH:**

**Điều 1.** Ban hành kèm theo Quyết định này tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh”, gồm 130 quy trình kỹ thuật.

**Điều 2.** Tài liệu “Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh” ban hành kèm theo Quyết định này được áp dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

Căn cứ vào tài liệu hướng dẫn này và điều kiện cụ thể của đơn vị, Giám đốc cơ sở khám bệnh, chữa bệnh xây dựng và ban hành tài liệu Hướng dẫn quy trình kỹ thuật chuyên ngành Hóa sinh phù hợp để thực hiện tại đơn vị.

**Điều 3.** Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày ký ban hành.

**Điều 4.** Các ông, bà: Chánh Văn phòng Bộ, Cục trưởng Cục Quản lý Khám, chữa bệnh, Chánh Thanh tra Bộ, Cục trưởng và Vụ trưởng các Cục, Vụ thuộc Bộ Y tế, Giám đốc các bệnh viện, viện có giường bệnh trực thuộc Bộ Y tế, Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc trung ương, Thủ trưởng Y tế các Bộ, Ngành và Thủ trưởng các đơn vị có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

**Nơi nhận:**

- Như Điều 4;
- Bộ trưởng Bộ Y tế (để b/c);
- Các Thứ trưởng BHYT;
- Bảo hiểm Xã hội Việt Nam (để phối hợp);
- Cổng thông tin điện tử BHYT;
- Website Cục QLKCB;
- Lưu VT, KCB.

**KT. BỘ TRƯỞNG**

**THỨ TRƯỞNG**



**Nguyễn Viết Tiến**



**DANH SÁCH 130 HƯỚNG DẪN QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
CHUYÊN NGÀNH HÓA SINH**

(Ban hành kèm theo Quyết định số **7034** /QĐ-BYT ngày **21** tháng **11** năm 2018  
của Bộ trưởng Bộ Y tế)

| TT  | TÊN QUY TRÌNH KỸ THUẬT                                                                        |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.  | Định lượng 17-OHP (17 alpha-Hydroxyprogesterone) máu                                          |
| 2.  | Định lượng $\alpha$ 2- Macroglobulin máu                                                      |
| 3.  | Định lượng acid amin máu và dịch sinh học bằng máy sắc ký lỏng siêu hiệu năng (UPLC)          |
| 4.  | Định lượng acid béo tự do máu                                                                 |
| 5.  | Định lượng acid hữu cơ niệu                                                                   |
| 6.  | Định lượng acylcarnitine máu bằng MSMS                                                        |
| 7.  | Định lượng Adiponectin máu theo kỹ thuật miễn dịch đo độ đục                                  |
| 8.  | Định lượng Aldosteron máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang                    |
| 9.  | Định lượng AMH (anti -mullerrian hormon) máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang |
| 10. | Định lượng Amikacin máu                                                                       |
| 11. | Định lượng Androstenedion máu theo kỹ thuật hóa phát quang                                    |
| 12. | Định lượng anpha 1 microglobulin niệu                                                         |
| 13. | Định lượng beta-hydroxybutyrate máu                                                           |
| 14. | Định lượng BTP (Beta-Trace Protein) máu                                                       |
| 15. | Định lượng C1 Esterase Inhibitor máu                                                          |
| 16. | Định lượng calprotectin trong phân                                                            |
| 17. | Định lượng CDT (Carbohydrate Deficient Transferrin) máu                                       |
| 18. | Định lượng Chì máu                                                                            |
| 19. | Định lượng Chì niệu                                                                           |
| 20. | Định lượng CRP (C reactive protein) máu                                                       |
| 21. | Định lượng DHEAS máu                                                                          |
| 22. | Định lượng đồng niệu                                                                          |
| 23. | Định lượng Ecstasy niệu                                                                       |
| 24. | Định lượng ELF (Enhanced Liver Fibrosis) máu                                                  |
| 25. | Định lượng EPO (Erythropoietin) máu                                                           |



|     |                                                                                     |  |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|--|
| 26. | Định lượng Everolimus máu                                                           |  |
| 27. | Định lượng GADA (Glutamic Acid Decarboxylase Autoantibodies) máu                    |  |
| 28. | Định lượng GH (Growth hormone) máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang |  |
| 29. | Định lượng Hemopexin máu                                                            |  |
| 30. | Định lượng HVA (Homovanillic acid) và VMA (Vanillyl mandelic acid) niệu             |  |
| 31. | Định lượng IA2A (Islet antigen 2) máu                                               |  |
| 32. | Định lượng ICA (Islet cells autoantibodies) máu                                     |  |
| 33. | Định lượng IgE đặc hiệu Dermatophagoides pteronyssinus máu                          |  |
| 34. | Định lượng IgE đặc hiệu Enterotoxin A (S Aureus) máu                                |  |
| 35. | Định lượng IgE đặc hiệu albumin trứng trong máu                                     |  |
| 36. | Định lượng IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin trong máu                                 |  |
| 37. | Định lượng IgE đặc hiệu AMOXICILIN                                                  |  |
| 38. | Định lượng IgE đặc hiệu AMPICILIN                                                   |  |
| 39. | Định lượng IgE đặc hiệu Anisakis larve trong máu                                    |  |
| 40. | Định lượng IgE đặc hiệu Aspergillus fumigatus trong máu                             |  |
| 41. | Định lượng IgE đặc hiệu bạch tuộc trong máu                                         |  |
| 42. | Định lượng IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin trong máu                                |  |
| 43. | Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium)                            |  |
| 44. | Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium)                        |  |
| 45. | Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô gàu của mèo (Cat dander epithelium)                 |  |
| 46. | Định lượng IgE đặc hiệu Blomia tropicallis trong máu                                |  |
| 47. | Định lượng IgE đặc hiệu cà chua trong máu                                           |  |
| 48. | <b>Định lượng IgE đặc hiệu cá hồi trong máu</b>                                     |  |
| 49. | <b>Định lượng IgE đặc hiệu cá ngừ trong máu</b>                                     |  |
| 50. | Định lượng IgE đặc hiệu cà rốt trong máu                                            |  |
| 51. | Định lượng IgE đặc hiệu cam trong máu                                               |  |
| 52. | Định lượng IgE đặc hiệu cần tây trong máu                                           |  |
| 53. | Định lượng IgE đặc hiệu Candida albicans trong máu                                  |  |
| 54. | Định lượng IgE đặc hiệu casein trong máu                                            |  |
| 55. | Định lượng IgE đặc hiệu chuối trong máu                                             |  |
| 56. | Định lượng IgE đặc hiệu Cladosporium herbarium trong máu                            |  |
| 57. | Định lượng IgE đặc hiệu cua trong máu                                               |  |
| 58. | Định lượng IgE đặc hiệu đào trong máu                                               |  |



|     |                                                                   |
|-----|-------------------------------------------------------------------|
| 59. | Định lượng IgE đặc hiệu đậu tây trong máu                         |
| 60. | Định lượng IgE đặc hiệu đậu tương trong máu                       |
| 61. | Định lượng IgE đặc hiệu <i>Dermatophagoides farinae</i> trong máu |
| 62. | Định lượng IgE đặc hiệu dứa trong máu                             |
| 63. | Định lượng IgE đặc hiệu dừa trong máu                             |
| 64. | Định lượng IgE đặc hiệu gạo trong máu                             |
| 65. | Định lượng IgE đặc hiệu gàu của chó (Dog dander)                  |
| 66. | Định lượng IgE đặc hiệu gián trong máu                            |
| 67. | Định lượng IgE đặc hiệu Gluten trong máu                          |
| 68. | Định lượng IgE đặc hiệu hạt vừng trong máu                        |
| 69. | Định lượng IgE đặc hiệu khoai lang trong máu                      |
| 70. | Định lượng IgE đặc hiệu khoai tây trong máu                       |
| 71. | Định lượng IgE đặc hiệu lạc trong máu                             |
| 72. | Định lượng IgE đặc hiệu Latex trong máu                           |
| 73. | Định lượng IgE đặc hiệu lông gà (Chicken feathers)                |
| 74. | Định lượng IgE đặc hiệu lòng trắng trứng trong máu                |
| 75. | Định lượng IgE đặc hiệu lông vịt (Duck feathers) trong máu        |
| 76. | Định lượng IgE đặc hiệu lúa mì trong máu                          |
| 77. | Định lượng IgE đặc hiệu mật ong trong máu                         |
| 78. | Định lượng IgE đặc hiệu mù tạt trong máu                          |
| 79. | Định lượng IgE đặc hiệu mùi tây trong máu                         |
| 80. | Định lượng IgE đặc hiệu nấm trong máu                             |
| 81. | Định lượng IgE đặc hiệu nọc ong mật trong máu                     |
| 82. | Định lượng IgE đặc hiệu nọc ong vàng trong máu                    |
| 83. | Định lượng IgE đặc hiệu ong bắp cây trắng trong máu               |
| 84. | Định lượng IgE đặc hiệu ong bắp cây vàng trong máu                |
| 85. | Định lượng IgE đặc hiệu ong giấy trong máu                        |
| 86. | Định lượng IgE đặc hiệu <i>Penicillium notatum</i> trong máu      |
| 87. | Định lượng IgE đặc hiệu PENICILLOYL G trong máu                   |
| 88. | Định lượng IgE đặc hiệu PENICILLOYL V trong máu                   |
| 89. | Định lượng IgE đặc hiệu quả Kiwi trong máu                        |
| 90. | Định lượng IgE đặc hiệu sữa dê trong máu                          |
| 91. | Định lượng IgE đặc hiệu sữa đun sôi trong máu                     |



|      |                                                           |
|------|-----------------------------------------------------------|
| 92.  | Định lượng IgE đặc hiệu sữa trong máu                     |
| 93.  | Định lượng IgE đặc hiệu táo trong máu                     |
| 94.  | Định lượng IgE đặc hiệu thịt bò trong máu                 |
| 95.  | Định lượng IgE đặc hiệu thịt lợn trong máu                |
| 96.  | Định lượng IgE đặc hiệu tôm trong máu                     |
| 97.  | Định lượng IgE đặc hiệu Toxocara canis trong máu          |
| 98.  | Định lượng IgE đặc hiệu trứng trong máu                   |
| 99.  | Định lượng IgE đặc hiệu Vanilla trong máu                 |
| 100. | Định lượng IgE đặc hiệu xoài trong máu                    |
| 101. | Định lượng IGF-1 (Insulin-like Growth factor-1) trong máu |
| 102. | Định lượng IgG dưới nhóm trong máu                        |
| 103. | Định lượng IL2-R (Interleukin 2 receptor) máu             |
| 104. | Định lượng Inhibin A máu                                  |
| 105. | Định lượng Lactat dịch não tủy                            |
| 106. | Định lượng LBP máu                                        |
| 107. | Định lượng Lithium máu                                    |
| 108. | Định lượng Lp(a) máu                                      |
| 109. | Định lượng Methadone máu                                  |
| 110. | Định lượng Osteocalcin máu                                |
| 111. | Định lượng P2PSA (2Pro Prostate-specific antigen) máu     |
| 112. | Định lượng PIVKA II máu                                   |
| 113. | Định lượng Pyrilinks-D máu                                |
| 114. | Định lượng Pyruvat máu                                    |
| 115. | Định lượng Quinidine máu                                  |
| 116. | Định lượng RBP (Retinol Binding Protein) máu              |
| 117. | Định lượng Renin máu bằng kỹ thuật ELISA                  |
| 118. | Định lượng Renin máu theo kỹ thuật hóa phát quang         |
| 119. | Định lượng SAA (serum Amyloid A) máu                      |
| 120. | Định lượng Salicylate máu                                 |
| 121. | Định lượng sản phẩm chuyển hóa của Nicotine               |
| 122. | Định lượng Sirolimus máu                                  |
| 123. | Định lượng TNF $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha) máu |
| 124. | Định lượng Troponin I hs máu                              |



|      |                                                          |  |
|------|----------------------------------------------------------|--|
| 125. | Định lượng UIBC (Unsaturated Iron Binding Capacity) máu  |  |
| 126. | Định lượng Zn (Kẽm) máu                                  |  |
| 127. | Đo hoạt độ Lipase dịch chọc dò                           |  |
| 128. | Đo hoạt độ P-Amylase máu                                 |  |
| 129. | Đo hoạt độ Thymidin kinase máu                           |  |
| 130. | Sàng lọc các bệnh rối loạn chuyển hóa bẩm sinh bằng MSMS |  |

KT. BỘ TRƯỞNG  
THỦ TRƯỞNG



Nguyễn Viết Tiến

**BỘ Y TẾ**

.....\*\*\*.....

**HƯỚNG DẪN  
QUY TRÌNH KỸ THUẬT  
CHUYÊN NGÀNH HÓA SINH**

**Tháng 11-năm 2018**

**MỤC LỤC**

| <b>STT</b> | <b>DANH MỤC KỸ THUẬT</b>                                                                      | <b>Trang</b> |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 1.         | Định lượng 17-0HP (17 alpha-Hydroxyprogesterone) máu                                          | 1            |
| 2.         | Định lượng $\alpha$ 2- Macroglobulin máu                                                      | 4            |
| 3.         | Định lượng acid amin máu và dịch sinh học bằng máy sắc ký lỏng siêu hiệu năng (UPLC)          | 8            |
| 4.         | Định lượng acid béo tự do máu                                                                 | 23           |
| 5.         | Định lượng acid hữu cơ niệu                                                                   | 25           |
| 6.         | Định lượng acylcarnitine máu bằng MSMS                                                        | 27           |
| 7.         | Định lượng Adiponectin máu theo kỹ thuật miễn dịch đo độ đục                                  | 31           |
| 8.         | Định lượng Aldosteron máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang                    | 33           |
| 9.         | Định lượng AMH (anti –mullerrian hormon) máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang | 36           |
| 10.        | Định lượng Amikacin máu                                                                       | 41           |
| 11.        | Định lượng Androstenedion máu theo kỹ thuật hóa phát quang                                    | 44           |
| 12.        | Định lượng anpha 1 microglobulin niệu                                                         | 46           |
| 13.        | Định lượng beta-hydroxybutyrate máu                                                           | 48           |
| 14.        | Định lượng BTP (Beta-Trace Protein) máu                                                       | 50           |
| 15.        | Định lượng C1 Esterase Inhibitor máu                                                          | 54           |
| 16.        | Định lượng calprotectin trong phân                                                            | 56           |
| 17.        | Định lượng CDT (Carbohydrate Deficient Transferrin) máu                                       | 60           |
| 18.        | Định lượng Chì máu                                                                            | 65           |
| 19.        | Định lượng Chì niệu                                                                           | 68           |
| 20.        | Định lượng CRP (C reactive protein) máu                                                       | 70           |
| 21.        | Định lượng DHEAS máu                                                                          | 72           |

|     |                                                                                     |     |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 22. | Định lượng đồng niệu                                                                | 77  |
| 23. | Định lượng Ecstasy niệu                                                             | 80  |
| 24. | Định lượng ELF (Enhanced Liver Fibrosis) máu                                        | 84  |
| 25. | Định lượng EPO (Erythropoietin) máu                                                 | 87  |
| 26. | Định lượng Everolimus máu                                                           | 89  |
| 27. | Định lượng GADA (Glutamic Acid Decarboxylase Autoantibodies) máu                    | 94  |
| 28. | Định lượng GH (Growth hormone) máu theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang | 96  |
| 29. | Định lượng Hemopexin máu                                                            | 99  |
| 30. | Định lượng HVA (Homovanillic acid) và VMA (Vanillyl mandelic acid)niệu              | 103 |
| 31. | Định lượng IA2A ( Islet antigen 2) máu                                              | 108 |
| 32. | Định lượng ICA (Islet cells autoantibodies) máu                                     | 100 |
| 33. | Định lượng IgE đặc hiệu Dermatophagoides pteronyssinus máu                          | 112 |
| 34. | Định lượng IgE đặc hiệu Enterotoxin A (S Aureus) máu                                | 115 |
| 35. | Định lượng IgE đặc hiệu albumin trứng trong máu                                     | 120 |
| 36. | Định lượng IgE đặc hiệu Alpha – lactalbumin trong máu                               | 123 |
| 37. | Định lượng IgE đặc hiệu AMOXICILIN                                                  | 128 |
| 38. | Định lượng IgE đặc hiệu AMPICILIN                                                   | 131 |
| 39. | Định lượng IgE đặc hiệu Anisakis larve trong máu                                    | 134 |
| 40. | Định lượng IgE đặc hiệu Aspergillus fumigatus trong máu                             | 139 |
| 41. | Định lượng IgE đặc hiệu bạch tuộc trong máu                                         | 144 |
| 42. | Định lượng IgE đặc hiệu Beta- lactoglobulin trong máu                               | 149 |
| 43. | Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium)                            | 154 |
| 44. | Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium)                        | 157 |

|     |                                                                     |     |
|-----|---------------------------------------------------------------------|-----|
| 45. | Định lượng IgE đặc hiệu biểu mô gàu của mèo (Cat dander epithelium) | 159 |
| 46. | Định lượng IgE đặc hiệu Blomia tropicallis trong máu                | 163 |
| 47. | Định lượng IgE đặc hiệu cà chua trong máu                           | 168 |
| 48. | <b><i>Định lượng IgE đặc hiệu cá hồi trong máu</i></b>              | 173 |
| 49. | <b><i>Định lượng IgE đặc hiệu cá ngừ trong máu</i></b>              | 176 |
| 50. | Định lượng IgE đặc hiệu cà rốt trong máu                            | 179 |
| 51. | Định lượng IgE đặc hiệu cam trong máu                               | 184 |
| 52. | Định lượng IgE đặc hiệu cần tây trong máu                           | 189 |
| 53. | Định lượng IgE đặc hiệu Candida albicans trong máu                  | 194 |
| 54. | Định lượng IgE đặc hiệu casein trong máu                            | 199 |
| 55. | Định lượng IgE đặc hiệu chuối trong máu                             | 204 |
| 56. | Định lượng IgE đặc hiệu Cladosporium herbarium trong máu            | 207 |
| 57. | Định lượng IgE đặc hiệu cua trong máu                               | 212 |
| 58. | Định lượng IgE đặc hiệu đào trong máu                               | 215 |
| 59. | Định lượng IgE đặc hiệu dâu tây trong máu                           | 218 |
| 60. | Định lượng IgE đặc hiệu đậu tương trong máu                         | 223 |
| 61. | Định lượng IgE đặc hiệu Dermatophagoides farinae trong máu          | 226 |
| 62. | Định lượng IgE đặc hiệu dưa trong máu                               | 229 |
| 63. | Định lượng IgE đặc hiệu dừa trong máu                               | 232 |
| 64. | Định lượng IgE đặc hiệu gạo trong máu                               | 237 |
| 65. | Định lượng IgE đặc hiệu gàu của chó (Dog dander)                    | 240 |
| 66. | Định lượng IgE đặc hiệu gián trong máu                              | 243 |
| 67. | Định lượng IgE đặc hiệu Gluten trong máu                            | 246 |
| 68. | Định lượng IgE đặc hiệu hạt vừng trong máu                          | 251 |

|     |                                                              |     |
|-----|--------------------------------------------------------------|-----|
| 69. | Định lượng IgE đặc hiệu khoai lang trong máu                 | 254 |
| 70. | Định lượng IgE đặc hiệu khoai tây trong máu                  | 259 |
| 71. | Định lượng IgE đặc hiệu lạc trong máu                        | 264 |
| 72. | Định lượng IgE đặc hiệu Latex trong máu                      | 267 |
| 73. | Định lượng IgE đặc hiệu lông gà (Chicken feathers)           | 272 |
| 74. | Định lượng IgE đặc hiệu lòng trắng trứng trong máu           | 275 |
| 75. | Định lượng IgE đặc hiệu lông vịt (Duck feathers) trong máu   | 278 |
| 76. | Định lượng IgE đặc hiệu lúa mì trong máu                     | 281 |
| 77. | Định lượng IgE đặc hiệu mật ong trong máu                    | 284 |
| 78. | Định lượng IgE đặc hiệu mù tạt trong máu                     | 287 |
| 79. | Định lượng IgE đặc hiệu mùi tây trong máu                    | 290 |
| 80. | Định lượng IgE đặc hiệu nấm trong máu                        | 293 |
| 81. | Định lượng IgE đặc hiệu nọc ong mật trong máu                | 296 |
| 82. | Định lượng IgE đặc hiệu nọc ong vàng trong máu               | 299 |
| 83. | Định lượng IgE đặc hiệu ong bắp cây trắng trong máu          | 302 |
| 84. | Định lượng IgE đặc hiệu ong bắp cây vàng trong máu           | 305 |
| 85. | Định lượng IgE đặc hiệu ong giấy trong máu                   | 308 |
| 86. | Định lượng IgE đặc hiệu <i>Penicillium notatum</i> trong máu | 311 |
| 87. | Định lượng IgE đặc hiệu PENICILLOYL G trong máu              | 316 |
| 88. | Định lượng IgE đặc hiệu PENICILLOYL V trong máu              | 319 |
| 89. | Định lượng IgE đặc hiệu quả Kiwi trong máu                   | 322 |
| 90. | Định lượng IgE đặc hiệu sữa dê trong máu                     | 327 |
| 91. | Định lượng IgE đặc hiệu sữa đun sôi trong máu                | 330 |
| 92. | Định lượng IgE đặc hiệu sữa trong máu                        | 333 |
| 93. | Định lượng IgE đặc hiệu táo trong máu                        | 336 |

|      |                                                              |     |
|------|--------------------------------------------------------------|-----|
| 94.  | Định lượng IgE đặc hiệu thịt bò trong máu                    | 341 |
| 95.  | Định lượng IgE đặc hiệu thịt lợn trong máu                   | 346 |
| 96.  | Định lượng IgE đặc hiệu tôm trong máu                        | 351 |
| 97.  | Định lượng IgE đặc hiệu <i>Toxocara canis</i> trong máu      | 354 |
| 98.  | Định lượng IgE đặc hiệu trứng trong máu                      | 359 |
| 99.  | Định lượng IgE đặc hiệu Vanilla trong máu                    | 362 |
| 100. | Định lượng IgE đặc hiệu xoài trong máu                       | 365 |
| 101. | Định lượng IGF -1 (insulin-like Growth factor - 1) trong máu | 368 |
| 102. | Định lượng IgG dưới nhóm trong máu                           | 371 |
| 103. | Định lượng IL2-R (interleukin 2 receptor) máu                | 375 |
| 104. | Định lượng Inhibin A máu                                     | 377 |
| 105. | Định lượng Lactat dịch não tủy                               | 380 |
| 106. | Định lượng LBP máu                                           | 382 |
| 107. | Định lượng Lithium máu                                       | 385 |
| 108. | Định lượng Lp(a) máu                                         | 387 |
| 109. | Định lượng Methadone máu                                     | 390 |
| 110. | Định lượng osteocalcin máu                                   | 392 |
| 111. | Định lượng P2PSA (2Pro Prostate-specific antigen) máu        | 394 |
| 112. | Định lượng PIVKA II máu                                      | 399 |
| 113. | Định lượng Pyrilinks -D máu                                  | 403 |
| 114. | Định lượng Pyruvat máu                                       | 407 |
| 115. | Định lượng Quinidine máu                                     | 409 |
| 116. | Định lượng RBP (Retinol Binding Protein) máu                 | 412 |
| 117. | Định lượng renin máu bằng kỹ thuật ELISA                     | 416 |

|      |                                                            |     |
|------|------------------------------------------------------------|-----|
| 118. | Định lượng Renin máu theo kỹ thuật hóa phát quang          | 418 |
| 119. | Định lượng SAA (serum Amyloid A) máu                       | 421 |
| 120. | Định lượng Salicylate máu                                  | 424 |
| 121. | Định lượng sản phẩm chuyển hóa của Nicotine                | 426 |
| 122. | Định lượng Sirolimus máu                                   | 429 |
| 123. | Định lượng TNF $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha ) máu | 434 |
| 124. | Định lượng Troponin I hs máu                               | 437 |
| 125. | Định lượng UIBC (Unsaturated Iron Binding Capacity) máu    | 441 |
| 126. | Định lượng Zn (Kẽm) máu                                    | 443 |
| 127. | Đo hoạt độ lipase dịch chọc dò                             | 445 |
| 128. | Đo hoạt độ P - Amylase máu                                 | 447 |
| 129. | Đo hoạt độ Thymidin kinase máu                             | 450 |
| 130. | Sàng lọc các bệnh rối loạn chuyển hóa bẩm sinh bằng MSMS   | 453 |



# ĐỊNH LƯỢNG 17- HYDROPROGESTERONE MÁU

## Chữ viết tắt:

17 - Hydroxyprogesterone: 17-OHP

Tăng sản tuyến thượng thận bẩm sinh: CAH (Congenital Adrenal Hyperplasia)

## I. NGUYÊN LÝ

17-hydroxyprogesterone (17-OHP) là một hormone steroid được sản xuất như là một phần của quá trình tạo ra hormone cortisol. Xét nghiệm định lượng 17-OHP trong máu để phát hiện và/hoặc đánh giá tăng sản tuyến thượng thận bẩm sinh (CAH), một tình trạng di truyền dẫn đến giảm cortisol, giảm aldosterone của thượng thận và tăng sản xuất hormon sinh dục nam (androgen).

Trong các giếng phản ứng có gắn sẵn kháng thể kháng 17-OHP. Khi cho bệnh phẩm vào giếng, 17-OHP trong mẫu thử cạnh tranh với 17OHP đánh dấu enzym peroxidase (kháng nguyên gắn enzym) gắn với kháng thể gắn trong giếng. Sau khi ủ, các phần không gắn loại bỏ bằng rửa. Phức hợp miễn dịch được tạo thành giữa kháng thể- kháng nguyên gắn enzym được phát hiện bằng cách cho cơ chất TMB (tetramethylbenzidine ), phản ứng chuyển cơ chất thành sản phẩm màu xanh. Độ đậm màu phản ứng tạo lên tỉ lệ nghịch với nồng độ 17-OHP trong mẫu. Dung dịch acid Sulphuric được thêm vào để dừng phản ứng. Kết quả tạo ra phức hợp màu vàng, được đo độ hấp thụ ánh sáng tại bước sóng 450nm bằng máy đọc ELISA (plate reader).

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### 2. Phương tiện, hóa chất

#### 2.1. *Phương tiện:*

- + Máy đọc ELISA, được trang bị để đo độ hấp thụ ở bước sóng 450nm
- + Thiết bị rửa các giếng xét nghiệm bằng tay hoặc tự động
- + Pipettes để cung cấp lượng dung dịch từ 10 đến 1000µl
- + Vortex trộn
- + Nước cất
- + Ống nghiệm dùng một lần, đồng hồ
- + Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- + 01 Giá đặt các giếng phản ứng
- + 02 miếng dán đậy các giếng phản ứng khi làm xét nghiệm

#### 2.2. *Hóa chất:*

- 96 giếng gắn kháng thể kháng 17-OHP IgG
- Dung dịch dừng phản ứng: 1 lọ 12mL chứa acid sulfuric, 0,15 mol/L

- Dung dịch Conjugate chứa 17-OHP gắn enzym peroxidase
- Dung dịch cơ chất TMB: 1 lọ chứa 3,3', 5,5' tetramethylbenzidine (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-TMB 0,25 g/L)
- Chuẩn 17OHP: 6 lọ x 1mL: 0.0 ng/mL, 0.2 ng/mL, 0.4 ng/mL, 1.6 ng/mL, 6.4 ng/mL, 19.2 ng/mL

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông. Máu không vỡ hồng cầu.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 1 ngày ở 15-25°C. Nếu không thực hiện xét nghiệm trong ngày, phải bảo quản đông lạnh.
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng 17-OHP máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm 17-OHP. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm 17-OHP 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham chiếu 17-OHP trong huyết thanh, huyết tương:

Trẻ nhỏ: 0.2-0.9 ng/mL

Nam: 0.2-2.3 ng/mL

Nữ: 0.2-1.3 ng/mL (thời kỳ kinh nguyệt: 1.0-4.5 ng/mL)

- Nồng độ 17-OHP trong huyết thanh phụ thuộc vào tuổi, với nồng độ cao nhất là trong suốt thai kỳ và ngay sau khi sinh. Ở trẻ 1 tuần tuổi nồng độ 17-OHP huyết thanh giảm 50 lần so với nồng độ 17-OHP trong máu cuống rốn. Đối với trẻ nam 30-60 ngày tuổi sau sinh có sự tăng 17-OHP thoáng qua. Trong suốt thời kỳ thơ ấu giá trị 17-OHP ở cả hai giới duy trì không đổi ở mức thấp, và sau đó tăng dần lên trong thời kỳ dậy thì (giá trị 17-OHP khoảng 3.03 nmol/l ~10.0 ng/mL). Cũng như cortisol, 17-OHP thay đổi trong ngày, với nồng độ đạt cao nhất vào buổi sáng và thấp nhất vào ban đêm. Đối với phụ nữ 17-OHP cũng tăng trong thời kỳ kinh nguyệt, và trong 3 tháng đầu thai kỳ.

- Nếu trẻ sơ sinh có nồng độ 17-OHP cao đáng kể, thì trẻ có khả năng mắc CAH. Nếu một người có mức độ tăng vừa phải, thì người đó có thể bị CAH ít nghiêm trọng hơn hoặc có thể bị thiếu 11-beta-hydroxylase (một khiếm khuyết enzyme khác có liên quan đến CAH).

- Kết quả 17-OHP bình thường có nghĩa là người bệnh không mắc CAH do thiếu 21-hydroxylase.

- Nồng độ thấp hoặc giảm ở người mắc CAH cho thấy có đáp ứng với điều trị.

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

Phản ứng chéo: 17 $\alpha$  OH pregnenolone : 1.3%

Progesterone : 1.2%

# ĐỊNH LƯỢNG $\alpha 2$ -MACROGLOBULIN MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

Alpha 2-macroglobulin là một chất ức chế protease có tác động đặc biệt đến enzyme tiêu hóa. Nó vận chuyển hormone và enzyme, thể hiện các chức năng kích thích và ức chế trong việc phát triển hệ thống bạch huyết và ức chế các thành phần của bộ thể và hệ thống đông máu. Nồng độ thay đổi trong suốt cuộc đời và khác nhau ở mỗi giới. Với tình trạng tăng tiêu hủy fibrin, sau cuộc phẫu thuật lớn, các người bệnh bị nhiễm trùng huyết và suy gan nặng có mức  $\alpha 2$ -macroglobulin thường thấp. Người bệnh bị viêm tụy cấp có nồng độ thấp trong huyết thanh thể hiện mối tương quan với độ nặng của bệnh. Đối với người bệnh nhồi máu cơ tim cấp có nồng độ  $\alpha 2$ -macroglobulin thấp có tiên lượng tốt với thời gian sống > 1 năm. Xét nghiệm  $\alpha 2$ -macroglobulin là một xét nghiệm chẩn đoán phân biệt quan trọng của hội chứng viêm thận. Ở đây, sự tăng tỉ lệ  $\alpha 2$ -macroglobulin/albumin là một biểu hiện của huyết niệu thận. Ở những người bệnh xơ hóa gan và đái tháo đường, mức  $\alpha 2$ -macroglobulin tăng.

Protein chứa trong dịch cơ thể người hình thành phức thể miễn nhiễm trong phản ứng hóa miễn dịch với kháng thể đặc hiệu. Các phức hợp này phân tán chùm ánh sáng chiếu xuyên qua mẫu. Cường độ ánh sáng phân tán tỉ lệ thuận với nồng độ của protein tương ứng trong mẫu. Kết quả được đánh giá bằng cách so sánh với chuẩn đã biết nồng độ.

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

### 2. Phương tiện, hóa chất

#### 2.1. Phương tiện

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec, ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cồn sát trùng, găng tay, ...

#### 2.2. Hoá chất

***Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc***

- N Antiserum to Human  $\alpha 2$ -Macroglobulin là huyết thanh động vật được sản xuất bằng sự tạo miễn dịch của thỏ với  $\alpha 2$ -macroglobulin người độ tinh khiết cao. Nồng độ của kháng thể hoạt động là < 26 g/L.  
Chất bảo quản: Sodium azide < 1 g/L

- Đóng gói: 1x 2.0 mL hoặc 1x5 mL
- Bảo quản và độ ổn định:  
Chưa mở hộp: ổn định 2–8 °C cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp thuốc  
Đã mở hộp thuốc: 4 tuần nếu được lưu trữ ở 2–8 °C, được đậy nắp cẩn thận ngay sau khi sử dụng và không bị nhiễm (eg., vi sinh vật)

***Hóa chất khác nhưng không được cung cấp trong hộp thuốc***

N Protein Standard SL  
N/T Protein Controls SL/L, M và H  
N/T Protein Control LC  
N Reaction Buffer  
N Diluent

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

***Mẫu máu:***

Huyết thanh hoặc huyết tương (Lithium heparin)

- Mẫu huyết thanh, huyết tương càng mới càng tốt. Lưu tại nhiệt độ 2 đến 8 °C không quá 7 ngày; Tại nhiệt độ -20 °C đến 3 tháng
- Mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu ra sử dụng không trữ đông lại. Mẫu huyết thanh, huyết tương sau khi rã đông cần phải được làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại tốc độ 15,000 x g) trước khi thực hiện xét nghiệm.

**Mẫu nước tiểu**

- Mẫu nước tiểu mới ngẫu nhiên hoặc được ghi nhận thời gian.
- Mẫu nước tiểu trữ đông không được khuyến cáo sử dụng.
- Mỗi mẫu nước tiểu cần được ly tâm trước khi xét nghiệm. Đối với các mẫu nước tiểu có giá trị pH < 6.0 cần phải được điều chỉnh về pH 7-9 càng sớm càng tốt sau khi nhận mẫu.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Cách vận hành**

- Máy phân tích đã được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm  $\alpha 2$ -macroglobulin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm  $\alpha 2$ -macroglobulin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm  $\alpha 2$ -macroglobulin đạt yêu cầu: trong 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

## **2.2. Xây dựng đường cong hiệu chuẩn**

Đường cong hiệu chuẩn được xây dựng bởi nhiều nồng độ chuẩn. Một chuỗi các pha loãng của N Protein Standard SL được thực hiện tự động bởi máy sử dụng N Diluent. Dung dịch chuẩn pha loãng được sử dụng trong vòng 4 giờ. Đường cong chuẩn có thể được sử dụng khi chất kiểm chuẩn với phương pháp tương ứng, như N/T Protein Controls SL/L, M và H cho huyết thanh và huyết tương và N/T Protein Control LC cho nước tiểu, được lặp lại trong khoảng tin cậy tương ứng. Cần thiết lập đường chuẩn mới khi một lô thuốc thử mới được đưa vào sử dụng.

### **2.2.1. Mẫu bệnh phẩm**

Mẫu huyết thanh và huyết tương được pha loãng tự động 1:20 với N Diluent. Mẫu nước tiểu không cần pha loãng. Mẫu pha loãng cần được đo trong vòng 4 giờ. Nếu kết quả thu được nằm ngoài khoảng đo, cần chạy lại mẫu với độ pha loãng cao hơn hoặc thấp hơn.

### **2.2.2. Nội kiểm (IQC)**

Cần phân tích ít nhất hai mức IQC của  $\alpha 2$ -macroglobulin: ví dụ /T Protein Controls SL/L, M hoặc H cho  $\alpha 2$ - macroglobulin trong mẫu huyết thanh, huyết tương. IQC cần tuân theo các qui định hiện hành hoặc các yêu cầu về quản lý chất lượng.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **Khoảng tham chiếu $\alpha 2$ -macroglobulin**

- Huyết thanh và huyết tương người lớn khỏe mạnh: 1.3 đến 3.0 g/L
- Nước tiểu của người khỏe mạnh thấp hơn giới hạn phát hiện của xét nghiệm này.
- Tuy nhiên, mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu riêng vì giá trị có thể khác nhau theo từng nhóm dân số.

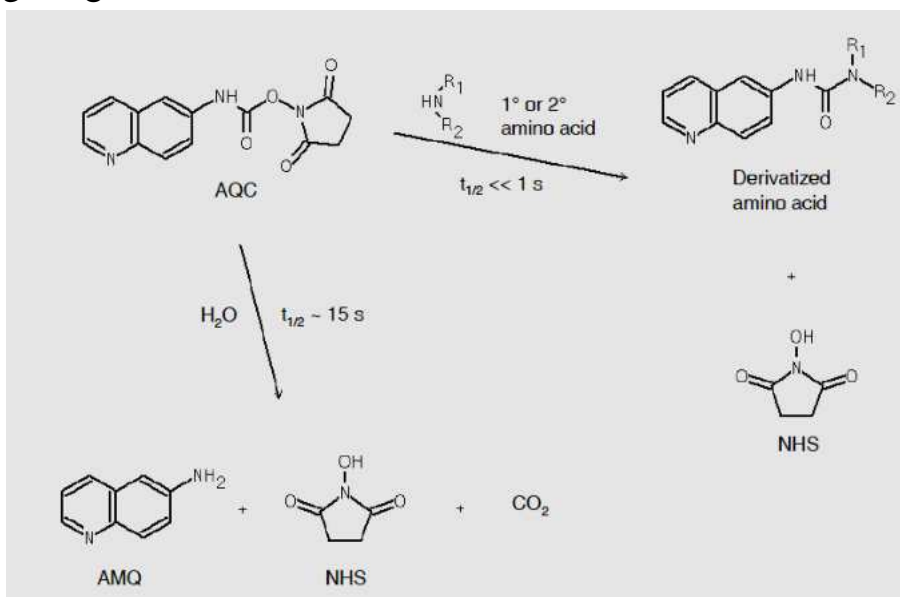
## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Mẫu máu: khi nồng độ triglycerid lên đến 6,5 mmol/L (5,7 g/L), bilirubin 1026  $\mu$ mol/L (0,6 g/L) và hemoglobin 10 g/L không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.
- Chưa ghi nhận sự gây nhiễu từ các loại thuốc thông thường.
- Bệnh phẩm đục và các hạt trong mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm; do đó, đối với các mẫu có chứa các hạt cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm bằng cách ly tâm 15.000g/10 phút).
- Những thay đổi từ người sử dụng sẽ không được khuyến cáo do có thể ảnh hưởng đến hiệu năng của máy và kết quả xét nghiệm. Người sử dụng có trách nhiệm thẩm định những sự thay đổi so với hướng dẫn trong Siemens Application Sheets hoặc IFU.
- Khi nhận định kết quả xét nghiệm luôn chú ý kết hợp cùng với tiền sử, bệnh lý, biểu hiện lâm sàng và các ghi nhận khác. Do ảnh hưởng bởi chất nền, các mẫu khảo sát liên phòng xét nghiệm và các mẫu kiểm chuẩn có thể cho kết quả khác khi thực hiện bằng phương pháp khác. Do đó, cần đánh giá kết quả trong mối tương quan với giá trị mục tiêu cụ thể của từng phương pháp.

# ĐỊNH LƯỢNG ACID AMIN MÁU VÀ DỊCH SINH HỌC BẰNG MÁY SẮC KÝ LỎNG SIÊU HIỆU NĂNG (UPLC)

## I. NGUYÊN LÝ

- Mẫu thử được khử protein bằng dung dịch acid sulfosalicylic (SSA) chứa nội chuẩn norvaline (Nva). Phương pháp phân tích acid amin bao gồm các giai đoạn sau:
  - Kiểm hoá mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu trắng (blank) đã được khử tạp bởi SSA bằng dung dịch NaOH/ borat.
  - Phản ứng tạo dẫn xuất:
- Dẫn xuất hoá các acid amin trong mẫu thử bằng AQC (6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate) để chuyển các acid amin bậc một và bậc hai thành các chất có thể phát hiện được bằng đầu dò cực tím (UV).
- Phản ứng tạo dẫn xuất hoàn toàn đòi hỏi một lượng dư số mol AQC. Lượng dư này sẽ bị thủy phân thành sản phẩm phụ là 6-aminoquinoline (AMQ), N-hydroxysuccinimide (NSH) và  $\text{CO}_2$ , những sản phẩm phụ này không gây cản trở cho quá trình phân tích. Riêng AMQ sẽ tạo ra một peak có ý nghĩa và dễ dàng nhận biết được. Phản ứng thủy phân này xảy ra chậm hơn so với phản ứng tạo dẫn xuất.
- Lưu ý: Creatinin không được dẫn xuất bởi thuốc thử AMQ nên sẽ không xuất hiện peak sắc ký đối với creatinin. Riêng urê sẽ được dẫn xuất kép (do cấu tạo phân tử đặc biệt) để tạo nên dẫn xuất urê đối xứng. Peak của urê sẽ được đánh dấu bằng chữ “Derivation Peak” trên sắc ký đồ.
- Phân tách các dẫn xuất AQC của acid amin bằng phương pháp UPLC, định lượng bằng đầu dò TUV.





### \* Phản ứng tạo dẫn xuất

- Hệ thống UPLC ứng dụng trong phân tích acid amin có đặc điểm: sử dụng áp suất cao chạy trên các cột phân tích có kích thước tiểu phần  $1,7\mu\text{m}$ , đường kính cột  $2,1\text{mm}$ , chiều dài cột  $150\text{mm}$ . Hệ thống cho phép phát hiện và định lượng 42 loại acid amin phổ biến và các hợp chất có liên quan với tốc độ 45 phút/ mẫu. Thời gian phân tích được rút ngắn trong khi độ nhạy, độ đặc hiệu và hiệu năng phân tách được cải thiện là ưu điểm của hệ thống UPLC so với các phương pháp khác.

## II. CHUẨN BỊ

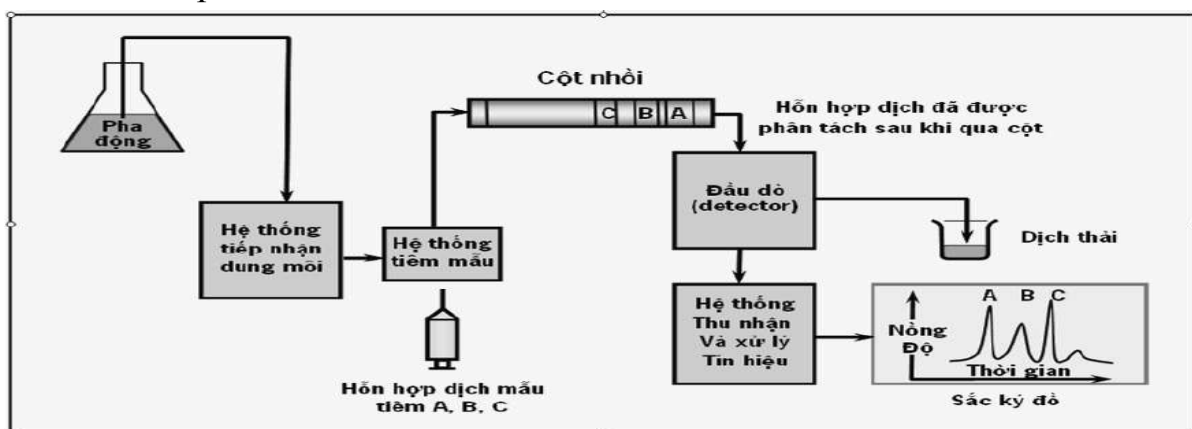
### 1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### 2. Phương tiện, hóa chất

#### 2.1. Phương tiện:

- o ACQUITY UPLC System: Hệ thống bao gồm:
  - Hệ thống bơm cao áp và quản lý dung môi
  - Bộ quản lý dung môi bốn dòng dung môi
  - Bộ quản lý mẫu với Flow Through Needle
  - Bộ ổn nhiệt cho cột với bộ tiền làm nóng linh hoạt
  - Khay chứa dung môi
  - Bộ kit hoạt động cho máy
  - Các sensors phát hiện rò rỉ
  - Detector
  - Phần mềm điều khiển, máy tính, máy in
  - Bộ phụ kiện cho chuẩn bị mẫu



Hình: Sơ đồ hệ thống UPLC

- o Máy li tâm thường và ly tâm tốc độ cao.
- o Máy lắc.

- Tủ ẩm.
- Máy rửa dụng cụ bằng sóng siêu âm.
- Bộ lọc dung môi.
- Cột sắc ký: cột phân tích có kích thước tiểu phần 1,7 $\mu$ m, đường kính cột 2,1mm, chiều dài cột 150mm.
- Giấy lọc với kích thước lọc 0,2  $\mu$ m.

**2.2. Hóa chất:** tất cả các dung dịch và hóa chất sử dụng cho hệ thống đều phải là chuẩn HPLC hoặc tốt hơn.

**Acetonitrile** đậm đặc.

**Nước cất**

**Methanol** đậm đặc

**Acid formic** đậm đặc

**MasTrak AAA standards** (bộ kit chuẩn): gồm có

- Các amino acid tan trong acid.
- Các amino acid tan trong base.
- allo-Isoleucine
- Glutamine
- Norvaline
- Tryptophan

**MasTrak AAA eluent A:** thành phần 8-10% acetonitrile, 4-6% formic acid, 84-88% ammonium acetate/water solution.

**MasTrak AAA derivatization kit:** bộ kit tạo dẫn xuất gồm có

- Borate buffer: <5% sodium tetraborate and >95% water
- Reagent powder (2A): 6-aminoquinolyl-N-hydroxy-succinimidyl carbamate (AQC)
- Reagent diluents (2B): acetonitrile

### 3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### 4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Huyết tương, nước tiểu và dịch não tủy là mẫu bệnh phẩm sử dụng cho xét nghiệm này.

- **Thu thập, xử lý và bảo quản mẫu máu:** Máu toàn phần tĩnh mạch được thu thập vào ống chống đông bằng heparin với thể tích tối thiểu là 1 mL, tối đa là 2 mL. Sau khi thu thập, mẫu được vận chuyển ngay tới phòng xét nghiệm. Tiến hành ly tâm ngay sau khi nhận mẫu với tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút, tách huyết tương và bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích. Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

- **Thu thập, xử lý và bảo quản nước tiểu:** Nước tiểu ngẫu nhiên được thu thập vào các ống đựng bệnh phẩm sạch, không có chất bảo quản. Thể tích tối thiểu là 2 mL. Vận chuyển ngay tới phòng xét nghiệm, ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút, chiết dịch trong và bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích. Một phần nước tiểu được sử dụng để định lượng

- **Thu thập, xử lý và bảo quản dịch não tủy:** Dịch não tủy được thu thập vào các ống đựng bệnh phẩm sạch, không có chất bảo quản. Thể tích tối thiểu là 0,5 ml. Vận chuyển ngay tới phòng xét nghiệm, ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút, chiết dịch trong và bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích.

- Mẫu huyết tương/ nước tiểu từ ngoài bệnh viện cần phải bảo quản đông lạnh.

#### 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 định lượng IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin 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)

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

#### Khoảng tham chiếu

**Bảng 1. Khoảng tham chiếu của acid amin huyết tương (đơn vị:  $\mu\text{mol/L}$ ):**

| Acid amin               | Kết quả<br>thông báo | 0-1 tháng | 1-24 tháng | 2-18 tuổi | >18 tuổi |
|-------------------------|----------------------|-----------|------------|-----------|----------|
| Alanine                 | Có                   | 131-710   | 143-439    | 152-547   | 177-583  |
| Allo-isoleucine         | Không                | 0-5       | 0-5        | 0-5       | 0-5      |
| Alpha-aminoadipic acid  | Không                | 0-1       | 0-1        | 0-1       | 0-6      |
| Alpha-aminobutyric acid | Không                | 8-24      | 3-26       | 4-31      | 5-41     |
| Arginine                | Có                   | 6-140     | 12-133     | 10-140    | 15-128   |
| Argininosuccinic acid   | Có                   | 0-8       | 0-8        | 0-8       | 0-8      |
| Asparagine              | Có                   | 29-132    | 21-95      | 23-112    | 35-74    |
| Aspartic acid           | Có                   | 0-129     | 0-23       | 0-24      | 0-25     |
| Beta-alanine            | Không                | 0-10      | 0-7        | 0-7       | 0-12     |
| Citrulline              | Có                   | 10-45     | 3-35       | 1-46      | 12-55    |
| Cystathionine           | Có                   | 0-3       | 0-5        | 0-3       | 0-3      |
| Cystine                 | Có                   | 17-98     | 16-84      | 5-45      | 5-82     |
| Ethanolamine            | Không                | 0-115     | 0-4        | 0-7       | 0-153    |
| Glutamic acid           | Có                   | 62-620    | 10-133     | 5-150     | 10-131   |
| Glutamine               | Có                   | 376-709   | 246-1182   | 254-823   | 205-756  |
| Glycine                 | Có                   | 232-740   | 81-436     | 127-341   | 151-490  |
| Histidine               | Có                   | 30-138    | 41-101     | 41-125    | 41-125   |
| Homocitrulline          | Không                | 0-15      | 0-8        | 0-8       | 0-8      |
| Homocystine             | Có                   | 0-1       | 0-1        | 0-5       | 0-1      |
| Hydroxylysine           | Không                | 0-7       | 0-7        | 0-2       | 0-1      |
| Isoleucine              | Có                   | 26-91     | 31-86      | 22-107    | 30-108   |
| Leucine                 | Có                   | 48-160    | 47-155     | 49-216    | 72-201   |
| Lysine                  | Có                   | 92-325    | 52-196     | 48-284    | 48-284   |
| Methionine              | Có                   | 10-60     | 9-42       | 7-47      | 10-42    |
| l-Methylhistidine       | Không                | 0-43      | 0-44       | 0-42      | 0-42     |
| Ornithine               | Có                   | 48-211    | 22-103     | 10-163    | 48-195   |
| Phenylalanine           | Có                   | 38-137    | 31-75      | 26-91     | 35-85    |
| Phosphoethanolamine     | Không                | 0-27      | 0-6        | 0-69      | 0-40     |
| Phosphoserine           | Không                | 0-47      | 0-20       | 0-30      | 0-14     |
| Serine                  | Có                   | 99-395    | 71-186     | 69-187    | 58-181   |
| Taurine                 | Không                | 46-492    | 15-143     | 10-170    | 54-210   |
| Threonine               | Có                   | 90-329    | 24-174     | 35-226    | 60-225   |

**Bảng 2. Khoảng tham chiếu của các acid amin niệu (đơn vị: umol/mmol creatinine)**

(tham khảo bảng 1 các acid amin không thông báo kết quả)

| Amino Acid              | 0-1 tháng | 1-12 tháng | 1-3 năm | 3-8 năm | 8-16 năm | >16 năm |
|-------------------------|-----------|------------|---------|---------|----------|---------|
| Alanine                 | 34-358    | 27-313     | 12-185  | 15-97   | 12-67    | 10-57   |
| Allo-isoleucine         | 0-5       | 0-5        | 0-5     | 0-5     | 0-5      | 0-5     |
| Alpha-aminoadipic acid  | 7-96      | 7-110      | 7-93    | 10-74   | 6-45     | 3-36    |
| Alpha-aminobutyric acid | 0-43      | 0-58       | 0-20    | 0-29    | 0-26     | 0-11    |
| Arginine                | 0-81      | 0-40       | 0-15    | 0-11    | 0-9      | 0-5     |
| Argininosuccinic acid   | 0-8       | 0-8        | 0-8     | 0-8     | 0-8      | 0-8     |
| Asparagine              | 15-223    | 18-197     | 19-79   | 13-73   | 10-86    | 11-56   |
| Aspartic acid           | 0-57      | 0-69       | 0-73    | 0-59    | 0-60     | 0-40    |
| Beta-alanine            | 0-41      | 0-38       | 0-27    | 0-18    | 0-9      | 0-11    |
| Citrulline              | 0-18      | 0-46       | 0-29    | 0-23    | 0-17     | 0-15    |
| Cystathionine           | 0-26      | 0-11       | 0-29    | 0-21    | 0-13     | 0-4     |
| Cystine                 | 5-109     | 2-42       | 1-23    | 1-20    | 1-17     | 0-21    |
| Ethanolamine            | 33-253    | 57-221     | 37-144  | 26-111  | 26-111   | 11-88   |
| Glutamic acid           | 0-96      | 0-102      | 0-89    | 0-53    | 0-44     | 0-47    |
| Glutamine               | 37-600    | 63-446     | 57-205  | 45-165  | 33-125   | 20-92   |
| Glycine                 | 127-2042  | 133-894    | 103-404 | 100-280 | 83-254   | 37-371  |
| Histidine               | 23-676    | 69-392     | 57-262  | 61-259  | 43-211   | 21-164  |
| Homocitrulline          | 0-25      | 0-20       | 0-20    | 0-20    | 0-20     | 0-20    |
| Homocystine             | 0-5       | 0-5        | 0-5     | 0-5     | 0-5      | 0-5     |
| Hydroxylysine           | 0-49      | 0-50       | 0-14    | 0-7     | 0-15     | 0-4     |
| Isoleucine              | 0-37      | 0-21       | 0-12    | 0-7     | 0-8      | 0-7     |
| Leucine                 | 4-84      | 4-72       | 3-45    | 3-22    | 3-17     | 3-10    |
| Lysine                  | 6-464     | 4-80       | 4-37    | 5-51    | 1-65     | 2-63    |
| Methionine              | 0-24      | 0-18       | 0-12    | 0-8     | 0-10     | 0-7     |
| 1-Methylhistidine       | 0-78      | 0-98       | 2-242   | 4-359   | 3-362    | 2-290   |
| Ornithine               | 0-37      | 0-19       | 0-15    | 0-8     | 0-5      | 0-4     |
| Phenylalanine           | 2-49      | 7-42       | 4-33    | 5-25    | 2-26     | 2-13    |
| Phosphoethanolamine     | 0-167     | 0-216      | 0-225   | 0-195   | 0-177    | 0-325   |
| Phosphoserine           | NA        | NA         | NA      | NA      | NA       | NA      |
| Serine                  | 48-509    | 34-329     | 46-143  | 40-94   | 28-94    | 15-85   |
| Taurine                 | 12-1057   | 10-809     | 6-267   | 7-264   | 28-268   | 13-534  |
| Threonine               | 9-337     | 12-145     | 7-73    | 10-67   | 10-48    | 4-48    |
| Tryptophan              | 1-46      | 3-37       | 2-29    | 2-27    | 2-27     | 2-12    |
| Tyrosine                | 5-74      | 12-64      | 8-38    | 8-32    | 5-30     | 4-21    |

**Bảng 3. Khoảng tham chiếu của acid amin dịch não tủy**

(Đơn vị: umol/L.)

| Amino Acid              | 0-12 tháng | 1-18 năm | >18 năm |
|-------------------------|------------|----------|---------|
| Alanine                 | 15-60      | 12-41    | 12-48   |
| Alpha-aminoadipic acid  | 0-1        | 0-1      | 0-1     |
| Alpha-aminobutyric acid | 1-5        | 1-5      | 0-8     |
| Arginine                | 7-40       | 13-31    | 13-35   |
| Asparagine              | 3-37       | 3-16     | 0-18    |
| Aspartic acid           | 0-17       | 0-11     | 0-5     |
| Citrulline              | 0-9        | 0-8      | 0-6     |
| Cystine                 | 0-1        | 0-1      | 0-1     |
| Ethanolamine            | 3-32       | 9-26     | 9-26    |
| Glutamic acid           | 0-50       | 0-11     | 0-11    |
| Glutamine               | 231-940    | 352-824  | 284-680 |
| Glycine                 | 3-19       | 3-8      | 2-14    |
| Histidine               | 7-38       | 9-30     | 11-25   |
| Homocystine             | 0-1        | 0-1      | 0-1     |
| Isoleucine              | 1-16       | 1-12     | 0-13    |
| Leucine                 | 5-35       | 6-20     | 4-27    |
| Lysine                  | 7-42       | 10-37    | 15-43   |
| Methionine              | 2-30       | 1-7      | 0-9     |
| Ornithine               | 2-21       | 2-19     | 2-9     |
| Phenylalanine           | 6-40       | 4-23     | 2-19    |
| Phosphoserine           | 3-7        | 3-7      | 3-7     |
| Serine                  | 25-105     | 21-86    | 19-38   |
| Taurine                 | 4-62       | 4-14     | 3-12    |
| Threonine               | 12-178     | 14-130   | 22-53   |
| Tryptophan              | 0-8        | 0-8      | 0-8     |
| Tyrosine                | 5-54       | 5-25     | 2-14    |
| Valine                  | 7-48       | 9-29     | 5-38    |

Tỷ số glycine DNT/ huyết tương ở trẻ sơ sinh:

Tỷ số glycine DNT/ huyết tương: 0.012 - 0.040

Có rất nhiều bệnh chuyển hoá di truyền gây bất thường acid amin trong huyết tương và / hoặc nước tiểu, như bệnh cystin niệu (cystinuria), bệnh siro niệu (maple syrup urine disease), bệnh lý chu trình ure (urea cycle defects), tăng glycin máu không nhiễm keton (nonketotic hyperglycinemia), homocystin niệu và phenylketon niệu (phenylketonuria). Một số bệnh lý acid amin lành tính, tuy nhiên số khác lại gây ra các vấn đề sức khoẻ trầm trọng. Nếu phát hiện sớm và điều trị thích hợp, có thể cứu sống được người bệnh và các biến chứng có thể ngăn ngừa hoặc kiểm soát được.

Rất nhiều bệnh di truyền gây thiếu hụt các enzyme ảnh hưởng đến quá trình dị hoá acid amin, làm tăng một hoặc nhiều acid amin trong huyết tương. Khi nồng độ acid amin huyết tương tăng cao, có thể xuất hiện acid amin niệu (aminoaciduria).

Một số bệnh di truyền ảnh hưởng đến cơ chế tái hấp thu acid amin ở thận, gây amino acid niệu trong khi nồng độ các acid amin này trong huyết tương bình thường hoặc thấp. Nhiều yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ các acid amin trong huyết tương và / hoặc trong nước tiểu, như nhịp ngày đêm, thức ăn/ dinh dưỡng ngoài đường tiêu hoá, trẻ đẻ non, bệnh gan hoặc thận, tác động của thuốc/ chất độc, và các tạp chất có trong mẫu do thu thập mẫu không đúng hay do quá trình khử protein. Bảng sau liệt kê danh sách theo trình tự alphabe của các acid amin về các bất thường có thể gặp.

| <b>Acid Amin</b>           | <b>Bất thường</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Alanine                    | Tăng trong: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Các trường hợp tăng lactate/pyruvate.</li> <li>• Thứ phát trong nhiễm acid lactic ( lactic acidosis).</li> <li>• Rối loạn tiên phát chuyển hoá pyruvate.</li> <li>• Rối loạn chu trình ure (có tăng cả glutamine).</li> <li>• Sử dụng valproate làm tăng alanine và glycine.</li> </ul>                                                                                                                                                         |
| Allo-isoleucine            | Tăng trong MSUD (bệnh siro niệu)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| $\alpha$ -Aminoadipic acid | Tăng trong 2-ketoadipic acidemia (do thiếu 2-ketoadipic dehydrogenase).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Arginine                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tăng trong argininemia (UCD do thiếu hụt arginase).</li> <li>• Tăng trong nước tiểu trong chứng cystin niệu,</li> <li>• Tăng trong nước tiểu trong chứng acid amin dibase niệu và không dung nạp protein chứa lysin (cystine không tăng).</li> <li>• Tăng do truyền arginine.</li> <li>• Tăng sau ăn dựa hầu</li> <li>• Giảm do huyết tán hoặc nhiễm các tế bào máu trong huyết tương, do chuyển arginine thành ornithine bởi arginase hồng cầu.</li> </ul> |
| Argininosuccinic acid      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tăng trong argininosuccinic niệu (UCD do thiếu hụt argininosuccinase).</li> <li>• Tăng trong nước tiểu trong citrullinemia type II.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Asparagine                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Có thể tăng trong giảm khử độc amoniac</li> <li>• Giảm bởi phân huỷ tự phát hay do vi khuẩn thành aspartic acid.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Aspartic acid              | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tăng trong nước tiểu trong dicarboxylic aminoaciduria.</li> <li>• Tăng do phân huỷ asparagine bởi vi khuẩn hoặc tự phát.</li> <li>• Tăng trong huyết tán hoặc nhiễm tế bào máu vào huyết</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                         |

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  | tương                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| $\beta$ -Alanine | <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng trong bệnh tăng <math>\beta</math>-alanine máu (được cho là tổn thương quá trình trao đổi amin của <math>\beta</math>-alanine).</li> <li>Tăng trong nước tiểu sau khi ăn thịt, đặc biệt thịt gia cầm (1-methylhistidine, carnosine và anserine cũng tăng).</li> <li>Tăng do thuốc: sử dụng thuốc chống co giật <math>\gamma</math>-vinyl-GABA (Vigabatrin<sup>TM</sup>) có thể làm tăng <math>\beta</math>-alanine huyết tương, GABA và acid <math>\beta</math>-amino-isobutyric.</li> </ul> |
| Citrulline       | <p>Tăng trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Citrullinemia (UCD do thiếu hụt argininosuccinate synthetase).</li> <li>Ú mật trong gan sơ sinh do thiếu hụt citrin (NICCD).</li> <li>Không dung nạp protein chứa lysine (Lysinuric protein intolerance).</li> <li>Ăn dưa hấu.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                      |
| Cystathionine    | <p>Tăng trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Cystathionin niệu tiên phát (Primary cystathioninuria) (thiếu <math>\gamma</math>-cystathionase).</li> <li>Cystathionin niệu thứ phát (Secondary cystathioninuria) liên quan đến thiếu vitamin B6, nhiễm độc tuyến giáp, neuroblastoma và ung thư tế bào gan.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                       |
| Cystine          | <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng trong nước tiểu trong chứng cystin niệu (tổn thương quá trình vận chuyển cystine, ornithine, arginine và lysine), tạo sỏi cystine ở thận.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Ethanolamine     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng trong bệnh gan.</li> <li>Ethanolamin niệu (Ethanolaminuria) có thể là dấu hiệu không đặc hiệu của bệnh thần kinh nặng</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Glutamic acid    | <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng trong nước tiểu trong dicarboxylic aminoaciduria.</li> <li>Tăng do phân huỷ glutamine ngẫu nhiên hoặc do vi khuẩn.</li> <li>Tăng trong huyết tán hoặc huyết tương bị nhiễm tế bào máu</li> <li>Tăng trong nước tiểu do nhiễm phân</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Glutamine        | <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng trong rối loạn chu trình urea (urea cycle disorders) cùng với tăng ammoniac huyết tương.</li> <li>Tăng trong hội chứng không dung nạp protein chứa lysine</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |



|                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                | <p>(lysinuric protein intolerance).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Giảm do phân huỷ thành glutamic acid ngẫu nhiên hoặc do vi khuẩn.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Glycine        | <p>Tăng trong</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng glycin máu không nhiễm ceton (Nonketotic hyperglycinemia – còn gọi là bệnh não glycine, do tổn thương phức hợp enzyme thoái hoá glycine trong ty thể, tăng tỷ số glycine DNT/ huyết tương)</li> <li>Propionic acidemia.</li> <li>Methylmalonic acidemia.</li> <li>Sử dụng valproate (tăng glycine và alanine).</li> </ul> <p>Huyết tán hoặc huyết tương nhiễm tế bào máu</p> <p>Tăng trong nước tiểu trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng proline máu type I (do thiếu proline oxidase) and type II (có thể do thiếu pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase).</li> <li>Iminoglycinuria (rối loạn vận chuyển qua màng lạnh tính)</li> <li>Nước tiểu nhiễm vi khuẩn (phân huỷ hippuric acid).</li> </ul> |
| Histidine      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng histidine máu (thiếu histidase).</li> <li>Tăng histidine trong nước tiểu (tổn thương vận chuyển histidine ở ruột/ thận).</li> <li>Tăng trong nước tiểu khi có thai.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| Homocitrulline | <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng ornithine máu-tăng ammoniac máu- chứng homocitrulline niệu (hyperornithinemia-hyperammonemia- homocitrullinuria (hội chứng HHH, tổn thương có thể trong vận chuyển ornithine qua màng trong ty thể vào matrix)</li> <li>Tăng ở trẻ em dùng sữa công thức (nguyên nhân hay gặp nhất tăng trong nước tiểu).</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Homocystine    | <p>Tăng homocysteine máu do giảm hoạt tính Cystathionine <math>\beta</math>-synthase (methionine huyết tương cũng tăng):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tổn thương cystathionine <math>\beta</math>-synthase do di truyền.</li> <li>Dùng 6-Azauridine triacetate (an anti-psoriatic).</li> <li>Điều trị bằng Isoniazid (lao).</li> </ul> <p>Tăng homocysteine máu do giảm hoạt tính 5-methyltetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase (methionine synthase) (methionine huyết tương bình thường)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                |

|            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|            | <p>hoặc thấp):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Thiếu hụt Methylene tetrahydrofolate reductase.</li> <li>• Tổn thương quá trình hấp thu hoặc chuyển hoá vitamin B<sub>12</sub>.</li> <li>• Suy dinh dưỡng thiếu B<sub>12</sub> hoặc folate.</li> </ul> <p>Tăng homocystine giả tạo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cystathionine niệu (chuyển cystathionine thành homocystine do vi khuẩn).</li> </ul> <p>Tăng homocysteine giả tạo trong máu toàn phần chưa ly tâm ở nhiệt độ phòng.</p> <p>Giảm homocystine trong mẫu chậm khử tạp protein.</p> <p>Giảm homocysteine toàn phần (&lt;1µM) trong thiếu hụt sulfite oxidase và cofactor molybdenum.</p> <p>Lưu ý: huyết tương phải khử protein ngay lập tức sau khi thu thập.</p> |
| Isoleucine | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tăng trong bệnh siro niệu (nước tiểu người bệnh có mùi thơm)</li> <li>• Tăng trong nhịn đói 1-2 ngày.</li> <li>• Tăng trong nước tiểu nhiễm phân</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Leucine    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tăng trong bệnh siro niệu</li> <li>• Tăng trong nhịn đói 1-2 ngày.</li> <li>• Tăng trong nước tiểu nhiễm phân.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Lysine     | <p>Tăng trong bệnh tăng lysin máu gia đình và saccharopin niệu (tổn thương protein hai chức năng α-amino adipic semialdehyde synthase).</p> <p>Tăng trong nước tiểu trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Không dung nạp protein chứa lysin (Tăng acid amin dibase niệu type II, di truyền lặn do bất thường vận chuyển của lysin, arginine và ornithine)</li> <li>• Tăng acid amin dibase niệu type I (Di truyền trội NST thường)</li> <li>• Tăng lysine niệu đơn độc (Isolated lysinuria).</li> <li>• Cystin niệu và argininemia</li> </ul>                                                                                                                                                                                                |
| Methionine | <p>Tăng trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Thiếu hụt methionine adenosyltransferase của gan (MAT) y (cùng với tăng methionine sulfoxide).</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

|                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tyrosinemia type I (thiếu hụt fumarylacetoacetate hydrolase).</li> <li>• Homocystine niệu do thiếu hụt cystathionine <math>\beta</math>-synthase.</li> <li>• Tăng methionine máu tạm thời ở trẻ nhỏ.</li> <li>• Trẻ nhỏ ăn thực phẩm có DL-methionine.</li> <li>• Chỉ định 6-Azauridine triacetate (an anti-psoriatic).</li> <li>• Tăng methionine máu không rõ cơ chế.</li> </ul>                                                                                                                                                                               |
| 1-Methylhistidine    | Tăng trong nước tiểu sau khi ăn thịt, đặc biệt là gia cầm ( $\beta$ -alanine, carnosine và anserine cũng tăng trong nước tiểu).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Ornithine            | <p>Tăng trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Làm teo màng mạch và võng mạc (thiếu ornithine <math>\square</math> aminotransferase).</li> <li>• Tăng ornithine máu- tăng ammoniac máu- chứng homocitrulline niệu.</li> <li>• Điều trị Isoniazid (nhiễm lao).</li> <li>• Huyết tán, huyết tương nhiễm tế bào máu do chuyển arginine thành ornithine bởi RBC arginase.</li> </ul> <p>Tăng trong nước tiểu trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cystine niệu.</li> <li>• Chứng acid amin dibase niệu và không dung nạp protein chứa lysin.</li> </ul>                           |
| Phenylalanine        | <p>Tăng trong:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Phenylketon niệu (PKU) và tăng phenylalanine máu do thiếu hụt tiên phát phenylalanine hydroxylase.</li> <li>• Giảm tổng hợp hoặc tái sử dụng cofactor tetrahydrobiopterin (<math>BH_4</math>).</li> <li>• Tăng phenylalanine máu nhất thời ở trẻ sơ sinh.</li> <li>• Tyrosinemia nhất thời ở trẻ sơ sinh.</li> <li>• Sử dụng Paracetamol (một số sản phẩm có chứa phenylalanine hoặc tiền chất của nó aspartame).</li> <li>• Bệnh gan</li> </ul> <p>Lưu ý: Sàng lọc PKU cần lấy mẫu 48 giờ sau sinh để trẻ có thể sử dụng protein 2 ngày.</p> |
| Phosphoethanol amine | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tăng trong nước tiểu trong hypophosphatasia (thiếu ALP isoenzymes không đặc hiệu mô)</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

|              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|              | <ul style="list-style-type: none"> <li>Giảm do thoái hoá thành ethanolamine tự phát hoặc do vi khuẩn.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Saccharopine | Tăng trong saccharopin niệu và tăng lysin máu gia đình (rối loạn chuyển hoá lysine)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Serine       | Giảm trong thiếu hụt 3-phosphoglycerate dehydrogenase (rối loạn sinh tổng hợp serine). Glycine cũng có thể thấp.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Taurine      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng trong nước tiểu trong thiếu molybdenum cofactor và thiếu sulfite oxidase đơn độc.</li> <li>Tăng trong nước tiểu trong bệnh tăng <math>\beta</math>-alanine máu.</li> <li>Tăng trong thoái hoá cơ</li> <li>Tăng sau ăn tôm cua sò (shellfish) hoặc thực phẩm bổ sung taurine.</li> <li>Tăng trong huyết tán hoặc huyết tương nhiễm tế bào máu (leukocytes và platelets)</li> </ul>                                                                                                                                                       |
| Threonine    | <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng ở trẻ nhỏ ăn sữa công thức.</li> <li>Có thể tăng trong bệnh gan.</li> <li>Rối loạn chuyển hoá không đặc hiệu</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Tyrosine     | <p>Tăng trong</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tyrosinemia nhất thời trẻ sơ sinh.</li> <li>Rối loạn nặng chức năng tế bào gan.</li> <li>Tyrosinemia type I (hepatorenal tyrosinemia), do thiếu fumarylacetoacetate hydrolase, tăng succinylacetone và <math>\delta</math>-aminolevulinic acid.</li> <li>Tyrosinemia type II (Oculocutaneous tyrosinemia), do thiếu tyrosine aminotransferase.</li> <li>Tyrosinemia type III, do Thiếu 4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase.</li> <li>Sau ăn</li> <li>Chảy máu do thiếu vitamin C (Scurvy).</li> <li>Cường giáp.</li> </ul> |
| Valine       | <ul style="list-style-type: none"> <li>Tăng trong bệnh siro niệu.</li> <li>Tăng valine máu (leucine và isoleucine không tăng)</li> <li>Nhịn đói 1-2 ngày.</li> <li>Tăng trong nước tiểu nhiễm phân.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

|                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Acid amin trung tính | Tăng trong nước tiểu trong bệnh Hartnup (do tổn thương hệ thống vận chuyển acid amin trung tính. Acid amin trung tính glycine và cystine không tăng).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Amino acid           | <p>Amino acid niệu toàn thể có thể do:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cystinosis (tích lũy cystine trong tiêu thể trong các mô khác nhau của cơ thể), nguyên nhân hay gặp nhất của hội chứng Fanconi di truyền thứ phát ở trẻ em.</li> <li>• Galactosemia.</li> <li>• Bệnh Wilson.</li> <li>• Tyrosinemia type I.</li> <li>• Không dung nạp fructose di truyền (Hereditary fructose intolerance).</li> <li>• Bệnh dự trữ Glycogen type I.</li> <li>• Hội chứng Lowe.</li> <li>• Hội chứng Fanconi.</li> <li>• Dinh dưỡng hoàn toàn ngoài đường tiêu hoá.</li> <li>• Ngộ độc kim loại nặng (cadmium, uranium, mercury, chì và platinum).</li> <li>• Tăng thoái giáng protein trong đói và bệnh.</li> <li>• Hoại tử ống thận cấp.</li> <li>• Rất nhiều thuốc (đặc biệt là kháng sinh).</li> </ul> |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Một số yếu tố nhiễu trình bày ở bảng trên. Có thể tóm tắt lại dưới đây:

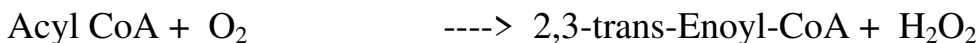
1. Phân huỷ tự phát
  - a) Glutamine và asparagine không ổn định và thoái hoá từ từ tương ứng thành glutamic acid và aspartic acid.
  - b) Phosphoethanolamine thoái hoá thành ethanolamine (và phosphate).
2. Huyết tán hoặc huyết tương nhiễm tế bào máu
  - a) Giảm arginine và tăng ornithine.
  - b) Tăng aspartic acid, glutamic acid và glycine.
  - c) Tăng taurine do leukocytes và tiểu cầu.
3. Nhiễm khuẩn
  - a) Chuyển glutamine và asparagine thành glutamic acid và aspartic acid.

- b) Trong nước tiểu, giảm glycine, alanine và nhiều acid amin khác có thể xảy ra do nhiễm khuẩn, nhưng glycine có thể tăng do phân huỷ hippuric acid bởi vi khuẩn.
  - c) Cystathionine có thể chuyển thành homocystine.
4. Nước tiểu nhiễm phân
- Tăng rất cao glutamic acid và acid amin mạch nhánh (branched-chain amino acids).
5. Chậm khử protein
- Giảm các acid amin chứa disulfide, chủ yếu cystine và homocystine. Các acid amin này thực hiện phản ứng trao đổi với các phân tử protein chứa nhóm sulfhydryl, dần dần gắn protein.
6. Ví dụ các yếu tố nhiễu trong thực phẩm và thuốc:
- a) glycine và alanine cao khi dùng valproate.
  - b) beta-alanine (cả GABA và beta-aminoisobutyric acid) cao khi dùng gamma-vinyl-GABA (vigabatrin™).
  - c) Tăng acid amin máu/ nước tiểu trong ăn nhiều, đặc biệt khi chế độ ăn nhiều protein
  - d) Tăng bài tiết beta-alanine và 1-methylhistidine (cả carnosine và anserine) do ăn thịt, đặc biệt là thịt gia cầm.
  - e) Tăng bài tiết taurine sau ăn tôm cua sò.
  - f) Homocitrulline thường thấy trong nước tiểu trẻ em ăn sữa công thức

# ĐỊNH LƯỢNG ACID BÉO TỰ DO MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

Acid béo tự do trong máu được định lượng bằng phương pháp đo màu



4-AAP: 4-aminoantipyrine

TOOS: N-ethyl-N-(2hydroxy-3-sulphopropyl) m-toluidine

## II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất:**

### 2.1. Phương tiện

- Máy hóa sinh tự động. Ví dụ : AU2700/AU680...
- Máy ly tâm

### 2.2. Hoá chất

- Thuốc thử định lượng acid béo tự do. Thuốc thử ổn định 30 ngày trên khay thuốc thử.
- Huyết thanh kiểm tra mức 1
- Huyết thanh kiểm tra mức 2
- Huyết thanh chuẩn
- Nước cất

**3. Người bệnh:**

Người bệnh và người nhà cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Lấy bệnh phẩm:**

- Huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng EDTA. ***Không sử dụng huyết tương chống đông bằng heparin.***

- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu sau khi lấy được để trong đá.
- Ly tâm lạnh, sau đó tách huyết thanh/ huyết tương ngay.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 2 giờ.

- Bảo quản bệnh phẩm ở - 20°C được 30 ngày.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

## **2. Tiến hành kỹ thuật:**

- Chuẩn bị máy hóa sinh tự động: chuẩn xét nghiệm (nếu cần) và tiến hành nội kiểm tra chất lượng (chạy IQC) cho xét nghiệm acid béo tự do.
- Nhận mẫu bệnh phẩm từ các khoa lâm sàng.
- Ly tâm mẫu bệnh phẩm trong 5 phút với vận tốc 5000 vòng/phút.
- Đưa vào máy phân tích.
- Thao tác vận hành máy theo quy trình vận hành máy.
- Duyệt kết quả
- Kiểm soát chất lượng:

+ *Hàng ngày* : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.

+ *Định kỳ* : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1.Giá trị tham chiếu:**

Khoảng tham chiếu của acid béo tự do máu. Lúc đói: 0,1 – 0,9 mmol/L

### **2.Ý nghĩa lâm sàng:**

Vì thể ceton được tạo ra từ acid béo tự do để giúp duy trì nồng độ glucose máu; acid béo tự do, glucose máu và D-3-hydroxybutyrat cần được định lượng cùng lúc để đánh giá rối loạn chuyển hoá thể ceton và một số rối loạn chuyển hoá khác.

Glucose x D-3-hydroxybutyrat máu khoảng 8~12 ở người bệnh hạ glucose máu.

Nếu glucose là 2mM, D-3-hydroxybutyrat nên là 4-6mM trong tình trạng kiểm soát, do vậy nếu D-3-hydroxybutyrat là 1mM, đó là bất thường giảm tạo thể ceton (hypoketotic).

Tỷ số FFA/ D-3-hydroxybutyrat thường gần 1 (0.5- 2.5)

Bất thường trong tạo thể ceton (ketogenesis) và oxy hoá acid béo tỷ số này có thể tăng (>3), bất thường trong thoái hoá thể ceton (ketolysis) tỷ số này có thể giảm (<0.3).

## **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.**

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác



# ĐỊNH LƯỢNG ACID HỮU CƠ NIỆU

## I. NGUYÊN LÝ

Phương pháp cổ điển phân tích các acid hữu cơ: Chiết tách bằng ethyl acetate/ tạo dẫn xuất oxime-trimethylsilyl/ phân tích bằng GCMS. Thử nghiệm nước tiểu chứa 2.65  $\mu\text{mol}$  creatinin hoặc tối đa 1 mL được dùng để chiết tách. Hai chất chuẩn nội được sử dụng là: 2-oxo-caproic acid cho các oxo-acid, và 3-phenylbutyric acid cho các loại acid hữu cơ khác. Các dẫn xuất oxime được tạo thành bởi phản ứng với hydroxylammonium chloride ở pH14. Sau phản ứng, hỗn hợp được chiết tách bằng ethyl acetate ở điều kiện pH1 và bão hòa NaCl. Lớp ethyl acetate được chuyển sang lọ và làm khô bằng khí nito. Các acid hữu cơ chiết tách được tạo dẫn xuất bằng thêm BSTFA và để trong lò 80°C trong 1 h 15 phút. Các alkane được thêm vào trước khi bơm mẫu, dùng làm chuẩn nội về thời gian lưu. Phân tách, xác định và bán định lượng các acid hữu cơ được thực hiện trên GCMS.

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### 2. Phương tiện, hóa chất

#### 2.1. *Phương tiện:*

- Agilent 7890A GC System
- Agilent 5975C inert XL EI/ CI Mass Selective Detector with Triple Axis Detector
- Agilent 7693 Autosampler
- Carrier gas: helium (99.995%)
- Column: HP- 5MS 30m x 0.25 mm id x 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness. Catalog number 190915S-433.

#### 2.2. *Hóa chất:*

Hóa chất định lượng acid hữu cơ niệu

### 3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### 4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

Nước tiểu tươi, không có chất bảo quản, đựng trong ống nghiệm khô sạch có nắp đậy. Thể tích tối ưu là 10 mL và tối thiểu là 2 mL.

Bệnh phẩm được bảo quản ở -40°C trong vòng 24 giờ thu thập, ổn định một năm.

#### **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 định lượng acid hữu cơ niệu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm acid hữu cơ niệu. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm acid hữu cơ niệu 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Tăng bài tiết acid hữu cơ trong nước tiểu có thể gặp trong nhiều bệnh rối loạn chuyển hóa do di truyền, phần lớn do thiếu hụt một enzym đặc hiệu dẫn đến tích tụ các sản phẩm chuyển hóa trung gian ở phía trước phản ứng xúc tác bởi enzyme đó, cùng với các chất chuyển hóa khác do các chất chuyển hóa trung gian được biến đổi theo các con đường thay thế. Biểu hiện lâm sàng rất khác nhau và không đặc hiệu. Phân tích acid hữu cơ niệu bằng GCMS là rất cơ bản trong chẩn đoán và theo dõi các bệnh lý này.

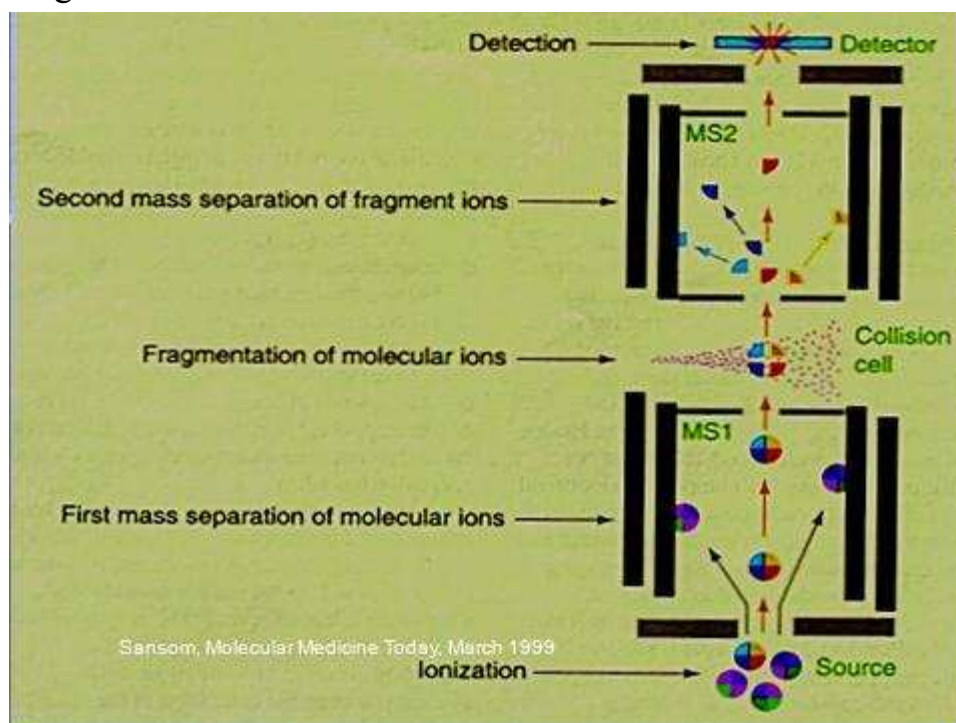
### **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

Ảnh hưởng của các kỹ thuật trong quá trình chiết tách: Nếu lớp nước ở dưới bị hút lên cùng lớp dung môi hữu cơ ở trên trong quá trình chiết tách, sẽ rất khó làm khô dịch chiết, và chất chiết khô chứa một lượng lớn sodium chloride. Sự có mặt của sodium chloride trong chất chiết có thể ức chế phản ứng tạo dẫn xuất làm tín hiệu của các acid hữu cơ rất thấp.

# ĐỊNH LƯỢNG ACYLCARNITINE MÁU BẰNG MSMS

## I. NGUYÊN LÝ

MSMS là thiết bị sử dụng để phân tách và định lượng các ion dựa trên tỷ số khối lượng/ điện tích của chúng (mass/charge ratio). MSMS tạo ra các phân tử tích điện từ mẫu cần phân tích, sau đó sử dụng điện và từ trường để phân tách và đo lường khối lượng của các phân tử tích điện. Bộ phận phát hiện sẽ tạo ra đồ thị phổ khối của các đỉnh có thể định lượng được bằng các chuẩn nội để xác định lượng mỗi chất có mặt trong mẫu.



MSMS gồm 2 MS nối với nhau bởi một bộ phận gọi là collision cell. Trước khi đi vào MS thứ nhất, mẫu được ion hoá bằng fast atom bombardment hoặc electrospray. (FAB-MS/MS hoặc ES-MS/MS). Quá trình này tạo điện tích nhưng không phân cắt các hợp chất hữu cơ trong mẫu. .

MS thứ nhất phân tách các ion gốc (parent ions) theo trình tự số khối (mass/charge ratio) và chuyển sang bộ collision chamber.

Bộ phận collision chamber phân cắt các ion gốc chuyển các mảnh ion sang MS thứ hai. Mẫu hình của các mảnh ion của mỗi ion gốc được phân tích và so sánh với phổ đã biết của các chất chuẩn nội. Toàn bộ quá trình ion hoá và phân tích kết quả mất khoảng 2 phút.

MS/MS là một công cụ hiệu quả giúp phân tích định lượng acylcarnitine để sàng lọc và chẩn đoán các rối loạn chuyển hoá acid béo.

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

## **2. Phương tiện, hóa chất**

### **2.1. Phương tiện:**

- Hệ thống MSMS
- Máy đục lỗ
- Máy lắc
- Tủ sấy
- Thiết bị thổi khô bằng khí nito
- Tủ hôt, máy ly tâm và các trang thiết bị PXN

### **2.2. Hóa chất:**

- Hóa chất định lượng Acylcarnitin
- Chất chuẩn
- Nước cất

## **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

## **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Huyết thanh/ huyết tương.

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch cho vào ống nghiệm. Máu không vỡ hồng cầu.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh

### **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 định lượng acylcarnitine. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm acylcarnitine. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm acylcarnitine 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)

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Các bệnh lý gây bất thường nồng độ carnitine/acylcarnitine

| Acylcarnitine                     | Nguồn gốc | Thay đổi | Bệnh                                                                                                                                                           |
|-----------------------------------|-----------|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Carnitine (total)                 | Máu       | ↓↓       | Khiếm khuyết vận chuyển carnitine                                                                                                                              |
| Acetyl (C2)                       | Máu       |          | Thiếu hụt hoặc giảm carnitine                                                                                                                                  |
| Propionyl (C3)                    |           |          | Propionic acidemia;<br>Methylmalonic acidemia<br>Thiếu hụt Holocarboxylase<br>Thiếu hụt Biotinidase                                                            |
| Butyryl/Isobutyryl (C4)           |           |          | Thiếu hụt SCAD<br>Thiếu hụt SCAD (thể nhẹ)<br>Thiếu hụt Isobutyryl-CoA dehydrogenase;<br>Thiếu hụt multiple acyl-CoA dehydrogenase (MAD)                       |
| Tiglyl/3-Methylcrotonyl (C5:1)    |           |          | Thiếu hụt 3-Oxothiolase; 3-MCC                                                                                                                                 |
| Isovaleryl/2-Methylbutyryl (C5)   |           |          | Isovaleric acidemia<br>Thiếu hụt 2-Methylbutyryl-CoA dehydrogenase<br>Thiếu hụt MAD                                                                            |
| 3-Hydroxyisovaleryl (C5-OH)       |           |          | Thiếu hụt 3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase (3-MCC)<br>Thiếu hụt 3-OH-3-methylglutaryl-CoA (HMGCoA) lyase<br>Thiếu hụt Holocarboxylase<br>Thiếu hụt Biotinidase |
| 3-Hydroxy-2-Methylbutyryl (C5-OH) |           |          | Thiếu hụt 3-Oxothiolase                                                                                                                                        |
| Methylmalonyl (C4-DC)             |           |          | MMA                                                                                                                                                            |
| Glutaryl (C5-DC)                  |           |          | Glutaric acidemia, type I (GA-I)                                                                                                                               |
| Hexanoyl (C6)                     |           |          | Thiếu hụt MCAD; Thiếu hụt MAD                                                                                                                                  |
| Octanoyl (C8)                     |           |          | Thiếu hụt MCAD; Thiếu hụt MAD                                                                                                                                  |
| Decenoyl (C10:1)                  |           |          | Thiếu hụt MCAD                                                                                                                                                 |

|                               |  |  |                                                                                                   |
|-------------------------------|--|--|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Methylglutaryl (C6-DC)        |  |  | Thiếu hụt HMG-CoA lyase                                                                           |
| Decanoyl (C10)                |  |  | Thiếu hụt MAD                                                                                     |
| Dodecanoyl (C12)              |  |  | Thiếu hụt MAD                                                                                     |
| Tetradodecenoyl (C14:2)       |  |  | Thiếu hụt VLCAD                                                                                   |
| Tetradecenoyl (C14:1)         |  |  | Thiếu hụt VLCAD                                                                                   |
| Tetradecanoyl (C14)           |  |  | Thiếu hụt VLCAD; Thiếu hụt MAD                                                                    |
| Palmitoyl (C16)               |  |  | Thiếu hụt VLCAD; Thiếu hụt CPT-II; Thiếu hụt CAT; Thiếu hụt LCHAD; Thiếu hụt MAD; Thiếu hụt CPT-I |
| Linoleoyl (C18:1)             |  |  | Thiếu hụt VLCAD; Thiếu hụt CPT-II; Thiếu hụt CAT; Thiếu hụt LCHAD<br>Thiếu hụt CPT-I              |
| 3-Hydroxypalmitoyl (C16-OH)   |  |  | Thiếu hụt LCHAD; Thiếu hụt TFP                                                                    |
| 3-Hydroxylinoleoyl (C18:1-OH) |  |  | Thiếu hụt LCHAD; Thiếu hụt TFP                                                                    |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

# **ĐỊNH LƯỢNG ADIPONECTIN**

## **Theo kỹ thuật miễn dịch đo độ đục**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Adiponectin là một polypeptid được tiết ra từ các tế bào mỡ, Adiponectin tham gia vào quá trình chuyển hóa lipid, góp phần trong điều chỉnh: huyết áp, bảo vệ thành mạch, hệ thống miễn dịch, kích thích hoạt động và giảm tình trạng kháng insulin. Ở người trưởng thành Adiponectin máu tỷ lệ nghịch với phần trăm lượng chất béo nội tạng. Adiponectin tác động có lợi trên hội chứng béo phì, hội chứng chuyển hóa, sự kháng insulin, xơ vữa động mạch, thiếu máu cơ tim cục bộ... bằng cách tác động lên các thành phần của mô mạch.

Định lượng theo phương pháp tua miễn dịch đo độ đục (turbidimetric): Mẫu bệnh phẩm khi trộn với thuốc thử xảy ra sự gắn kết (kháng nguyên - kháng thể) giữa các hạt latex gắn kháng thể đơn dòng kháng adiponectin người với các adiponectin trong mẫu bệnh phẩm cần phân tích tạo thành phức hợp latex-adiponectin và kháng thể. Phức hợp ngưng kết này tỷ lệ thuận với nồng độ adiponectin trong mẫu bệnh phẩm. Trên máy phân tích hóa sinh tự động kết quả được xác định dựa trên đường chuẩn đã được thực hiện

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học chuyên ngành có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện**

- Máy phân tích hóa sinh tự động của các hãng đều thực hiện được như: AU 640, AU680, AU2700, AU 5800; Các máy Cobas: C501, 502, và một số máy khác
- Máy ly tâm,
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, ống sample cup

##### **2.2. Hóa chất**

- Thuốc thử: Human adiponectin latex kit
- Chất chuẩn, QC các mức khác nhau

#### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như: lithium heparin, EDTA,..
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Bệnh phẩm được tách huyết thanh, huyết tương để ổn định 2-8<sup>0</sup>C trong 2 ngày hoặc 3 tháng ở -20<sup>0</sup>C

#### 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 Adiponectin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Adiponectin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Adiponectin 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

#### 1. Giá trị tham chiếu

| Chỉ số BMI (Body Mass Index)<br>(Kg/m <sup>2</sup> ) | Nam<br>(mcg/mL) | Nữ<br>(mcg/mL) |
|------------------------------------------------------|-----------------|----------------|
| < 25                                                 | 4 -26           | 5 – 37         |
| 25- 30                                               | 4 -20           | 5 – 28         |
| >30                                                  | 2 - 20          | 4 - 22         |

### V. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác



# **ĐỊNH LƯỢNG ALDOSTERON MÁU**

**theo kỹ thuật hóa phát quang**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Aldosteron là một hormon steroid của vỏ thượng thận có trọng lượng phân tử 360,4 dalton. Vai trò của aldosteron trong chuyển hóa muối nước là điều hòa nồng độ natri và kali, do đó nó quy định khối lượng chất lỏng trong cơ thể. Aldosteron có tác dụng làm giảm bài tiết natri và tăng bài tiết kali tại thận, tuyến mồ hôi và tuyến nước bọt...

Aldosteron được định lượng bằng phương pháp miễn dịch cạnh tranh sử dụng kháng thể đơn dòng cừu để kết hợp với phân tử Aldosteron.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

- Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp.

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

- Máy móc: Liaison XL và một số máy miễn dịch khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng Aldosteron, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng Aldosteron.

### **3. Người bệnh:**

Người bệnh, người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm:**

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (EDTA) và nước tiểu 24h để định lượng Aldosteron. Lấy 3ml máu tĩnh mạch và ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông là EDTA. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút để tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

Mẫu lấy trong khoảng từ 7-10 h sáng và người bệnh phải ở tư thế nằm hay đứng được 30 phút trước khi lấy máu.

Huyết thanh, huyết tương nên tách ra khỏi cục máu đông càng sớm càng tốt.

Bệnh phẩm ổn định 5 ngày kể từ ngày lấy mẫu nếu giữ ở nhiệt độ ở 2-8°C; Nếu lưu mẫu bệnh phẩm lâu hơn cần lưu trữ đông lạnh sâu ở -20°C hoặc thấp hơn. Các mẫu bệnh phẩm không nên đông lạnh và rã đông nhiều lần.

Nước tiểu: Thu thập nước tiểu 24 giờ, giữ nước tiểu trong tủ lạnh, đo và ghi thể tích. Thêm vào 1 g acid boric/100 ml nước tiểu. Trộn đều nước tiểu trước khi lấy mẫu phân tích. Mẫu nước tiểu có chất bảo quản Borat ổn định trong 5 ngày ở 2-8°C hoặc 4 tuần khi được bảo quản ở -20°C. Mẫu nước tiểu ổn định được qua 3 lần đông lạnh/rã đông.

## **2. Tiến hành kỹ thuật:**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Aldosteron. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Aldosteron. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Aldosteron 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).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ Giá trị tham chiếu của Aldosteron phụ thuộc vào mẫu thử là huyết thanh hay huyết tương và tư thế khi lấy mẫu.

### **+ Huyết thanh**

- Tư thế đứng: 2,52 – 39,2 ng/dL

- Tư thế nằm: 1,76 – 23,2 ng/dL

### **+ Huyết tương (EDTA)**

- Tư thế đứng: 2,21 – 35,3 ng/dL

- Tư thế nằm: 1,17 – 23,6 ng/dL

### **+ Nước tiểu**

Nước tiểu 24h: 1,19 – 28,1 µg/24h

+ Tăng Aldosteron:

- Tăng Aldosteron nguyên phát (hội chứng Conn)

- Tăng Aldosteron thứ phát: Xảy ra khi có tình trạng giảm lưu lượng máu đến thận, giảm huyết áp, hoặc giảm nồng độ natri.

- Tăng Aldosteron thứ phát cũng có thể gặp trong suy tim sung huyết, xơ gan, bệnh thận...

+ Giảm Aldosteron:

- Suy thượng thận
- Ở trẻ sơ sinh với tăng sản thượng thận bẩm sinh, trẻ sơ sinh thiếu một loại enzyme cần thiết để sản xuất cortisol, trong một số trường hợp, điều này cũng làm giảm sản xuất aldosteron. Đây là một nguyên nhân hiếm gặp của aldosteron thấp.

## **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Mẫu bệnh phẩm là máu không được tách huyết thanh hay huyết tương ra khỏi cục đông ngay. Khắc phục: Tách huyết thanh hay huyết tương ra khỏi cục đông ngay sau khi bệnh phẩm được gửi đến phòng xét nghiệm.

- Mẫu nước tiểu bảo quản không đúng cách: Cần tập huấn qui trình lấy và bảo quản nước tiểu cho nhân viên.

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Các mẫu có nồng độ các chất tối đa như sau không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

Các mẫu huyết tán hemoglobin đến 600 mg/dL, huyết thanh vàng bilirubin đến 684  $\mu\text{mol/L}$  (40 mg/dL), huyết thanh đục triglycerid đến 33.9 mmol/L (3000mg/dL) và protein 120g/L ...

## **ĐỊNH LƯỢNG AMH (ANTI-MULLERIAN HORMONE) MÁU theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang**

AMH (Anti Mulerian Hormone), có bản chất là glycoprotein, lưu hành trong máu người. Ở phụ nữ, các tế bào hạt granulosa trong tiền nang noãn của buồng trứng chế xuất ra AMH. Nồng độ AMH trong máu phản ánh trữ lượng tiền nang noãn và khả năng sinh trứng của buồng trứng. AMH cung cấp một dấu hiệu của số lượng trứng được sản xuất rụng vào chu kỳ hàng tháng của phụ nữ. Mức độ AMH trong máu là một chỉ số giúp đánh giá về dự trữ buồng trứng của phụ nữ và hữu ích trong việc đánh giá tình trạng sinh sản. Sự giảm tiết AMH trong đời sống sinh sản của người phụ nữ phản ánh sự suy giảm số lượng trứng/nang noãn theo tuổi và theo sự lão hóa của buồng trứng. Mặc dù nồng độ AMH giảm theo tuổi, nhưng sự dao động theo ngày của nồng độ hormone trong chu kỳ kinh nguyệt ở phụ nữ rất nhỏ, do đó có thể đo nồng độ AMH trong ngày bất kỳ của chu kỳ kinh.

Ở nam giới, AMH do tế bào Sertoli sản sinh, là những tế bào sinh tinh trong tinh hoàn. Nồng độ AMH trong máu phản ánh trữ lượng tiền tinh trùng và khả năng sinh tinh của tinh hoàn.

### **I. NGUYÊN LÝ**

Định lượng AMH dựa trên nguyên lý miễn dịch kiểu “Sandwich”. Có thể sử dụng hai phương pháp:

*Theo phương pháp hóa phát quang –CLIA:*

Định lượng AMH dựa trên phương pháp miễn dịch enzyme một bước đồng thời (kiểu “Sandwich”). Mẫu bệnh phẩm được thêm vào giếng phản ứng cùng với chất cộng hợp kháng thể (đơn dòng, chuột) kháng AMH – phosphatase kiềm trong đệm MES, protein trong đệm muối TRIS và các hạt thuận từ phủ kháng thể (đơn dòng, chuột) kháng AMH trong đệm TRIS. Sau khi ủ trong giếng phản ứng, các chất gắn với pha rắn sẽ được giữ lại trong từ trường, các thành phần không gắn sẽ bị rửa trôi. Tiếp đó, chất nền quang hóa Lumi-Phos 530 được thêm vào giếng phản ứng và ánh sáng tạo ra bởi phản ứng được đo bằng bộ phận đo quang (luminometer). Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ thuận với nồng độ AMH có trong mẫu phản ứng. Lượng chất cần phân tích trong mẫu được xác định dựa trên đường cong chuẩn đa điểm đã được lưu trong máy.

*Theo phương pháp điện hóa phát quang - ECLIA):*

Nguyên lý bắt cặp. Tổng thời gian xét nghiệm: 18 phút.

- Giai đoạn ủ đầu: 50  $\mu$ L mẫu thử, kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng AMH đánh dấu biotin, và kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng AMH đánh dấu phức hợp ruthenium\* tạo thành phức hợp bắt cặp.

- Giai đoạn ủ thứ hai: Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin, phức hợp miễn dịch trên 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 trên bề mặt của điện cực. Những thành phần không gắn kết sẽ bị thải ra ngoài buồng đo bởi dung dịch ProCell/ProCell M. Cho điện áp vào điện cực sẽ tạo nên sự phát quang hóa học được đo bằng bộ khuếch đại quang tử.
- Các kết quả được xác định thông qua một đường chuẩn xét nghiệm trên máy được tạo nên bởi xét nghiệm 2-điểm chuẩn và thông tin đường chuẩn chính qua mã vạch trên hộp thuốc thử hoặc mã vạch điện tử.

Ghi chú: \* Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-complex (Ru(bpy) )

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

### 2. Phương tiện hóa chất

#### 2.1. *Phương tiện:*

- Máy miễn dịch tự động như: Unicel DxI 800 , máy e 170, E601, E602 và một số máy miễn dịch khác
- Máy ly tâm,
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, ống sample cup

#### 2.2. *Hóa chất*

*Các hóa chất cần thiết cho phân tích trên máy Unicel DxI 800 gồm:*

- Hóa chất chính Access AMH: Hóa chất tích hợp sẵn sàng cho sử dụng, đóng gói 100 xét nghiệm/hộp. Bảo quản ở 2-8°C.
- Chất hiệu chuẩn Access AMH Calibrators: dùng để xây dựng đường cong chuẩn cho xét nghiệm AMH. Chất hiệu chuẩn có 6 mức, dạng bột đông khô. Được bảo quản ở 2- 10°C. Sau khi hoàn nguyên, chất chuẩn ổn định trong 90 ngày ở 2-10°C.
- Chất kiểm chứng Access AMH QC: Dùng để kiểm tra tính chính xác của kết quả xét nghiệm AMH.
- Access Substrate: Cơ chất phát quang
- Sample diluent A: dùng để pha loãng mẫu khi cần thiết.
- Unicel DxI Wash buffer II: Dung dịch rửa phản ứng
- Unicel DxI Reaction Vessel: Giếng phản ứng

*Các hóa chất cần thiết cho phân tích trên máy e 170, e601, e602 gồm:*

- M Vi hạt phủ Streptavidin (nắp trong), 1 chai, 6.5 mL: Vi hạt phủ Streptavidin 0.72 mg/mL; chất bảo quản.
- R1 Anti-AMH-Ab~biotin (nắp xám), 1 chai, 8 mL: Kháng thể đơn dòng kháng AMH đánh dấu biotin (chuột) 1.0 mg/L, đệm phosphate 50 mmol/L, pH 7.5; chất bảo quản.
- R2 Anti-AMH-Ab~Ru(bpy) (nắp đen), 1 chai, 8 mL: Kháng thể đơn dòng kháng AMH (chuột) đánh dấu phức hợp ruthenium 1.0 mg/L, đệm phosphate 50 mmol/L, pH 7.5; chất; chất bảo quản.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như lithium heparin. Không sử dụng chất chống đông EDTA.
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Mẫu máu được tách riêng huyết thanh, huyết tương ổn định trong 3 ngày ở 20-25 °C, 5 ngày ở 2-8 °C và 6 tháng ở nhiệt độ -20 °C ( $\pm 5$  °C). Mẫu chỉ nên đông lạnh một lần.

### **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 AMH. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm AMH. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm AMH đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

AMH có liên quan với số lượng nang noãn nguyên thủy của buồng trứng. Nếu dự trữ buồng trứng càng tốt thì khả năng sinh sản của buồng trứng càng cao, ngược lại nếu dự trữ buồng trứng yếu sẽ gây ra tình trạng hiếm muộn ở phụ nữ. Nồng độ AMH không thay đổi đáng kể trong suốt chu kỳ kinh và giảm dần theo tuổi tác.

##### 2. Giá trị tham chiếu

| Khả năng sinh sản của buồng trứng | ng / mL   | pmol / L    |
|-----------------------------------|-----------|-------------|
| Khả năng sinh sản tối ưu          | 4,0 - 6,8 | 28,6 - 48,5 |
| Khả năng sinh sản tốt             | 2.2 - 4.0 | 15,7 - 28,6 |
| Khả năng sinh sản kém             | 0,3 - 2,2 | 2.2 - 15.7  |
| Khả năng rất kém                  | 0,0 - 0,3 | 0,0 - 2,2   |
| Hội chứng buồng trứng đa nang     | > 6,8     | > 48,5      |

- AMH giúp đánh giá dự trữ và đáp ứng buồng trứng trong khi thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm.
- Tiên lượng được những yếu tố có lợi cho người bệnh. Phụ nữ có nồng độ AMH thấp thường là đáp ứng kém với thuốc kích thích buồng trứng và phải sử dụng rất nhiều thuốc để kích thích buồng trứng.
- Nếu AMH nhỏ hơn 3, khả năng đáp ứng kém với thuốc khi kích thích buồng trứng làm thụ tinh trong ống nghiệm là rất cao và kết quả thành công bị ảnh hưởng rất nhiều. Ngược lại nếu AMH cao, khả năng bị hội chứng quá kích buồng trứng sẽ rất cao.

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu

- Mẫu thực hiện xét nghiệm AMH không nên rã đông quá 2 lần.
- Tránh sử dụng mẫu nhiễm mỡ (mẫu bị đục quá) hoặc vỡ hồng cầu.
- Các yếu tố có nguy cơ gây nhiễu khác trong mẫu bệnh phẩm có thể xuất hiện và gây ra kết quả sai trong xét nghiệm miễn dịch. Một số mẫu chứa yếu tố dạng thấp, phosphatase kiềm nội sinh, fibrin, và protein có khả năng liên kết với phosphatase kiềm có thể ảnh hưởng đến kết quả. Đánh giá cẩn thận kết quả xét nghiệm của những người bệnh nghi ngờ có những yếu tố gây nhiễu này.
- Mẫu cần thực hiện ly tâm đủ thời gian để tách huyết thành/huyết tương hoàn toàn, tránh hiện tượng đông dầy làm sai lệch kết quả phân tích

# ĐỊNH LƯỢNG AMIKACIN MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

Amikacin sulfat là kháng sinh bán tổng hợp họ aminoglycosid. Thuốc diệt khuẩn nhanh do gắn hẳn vào tiểu đơn vị 30S của ribosom vi khuẩn và ngăn chặn sự tổng hợp protein của vi khuẩn. Dùng amikacin thận trọng, đặc biệt đối với người cao tuổi và trẻ nhỏ, vì có nguy cơ cao độc cho tai và cho thận. Phải giám sát chức năng thính giác và chức năng thận. Cần phải tránh dùng đồng thời hoặc nối tiếp với các thuốc khác có độc tính cho thính giác hoặc thận (cả dùng toàn thân và tại chỗ). Nhất thiết phải định lượng nồng độ thuốc trong huyết thanh khi dùng cho người bị tổn thương thận. Việc kiểm tra chức năng thận trong quá trình điều trị bằng aminoglycosid ở người bệnh cao tuổi có sự giảm chức năng thận là đặc biệt quan trọng.

**Nguyên lý:** dựa trên nguyên lý miễn dịch độ đục ức chế tăng cường hạt (Particle-enhanced turbidimetric inhibition immunoassay)

Xét nghiệm dựa trên sự cạnh tranh giữa amikacin trong mẫu và thuốc tráng vào một vi hạt cho các vị trí liên kết kháng thể của kháng thể amikacin có trong thuốc thử. Vi hạt từ được phủ amikacin nhanh chóng bị kết tụ trong sự hiện diện của thuốc thử kháng thể chống amikacin và trong trường hợp không có của bất kỳ loại thuốc cạnh tranh trong mẫu. Tỷ lệ thay đổi độ hấp thụ được đo và tỷ lệ thuận với tỷ lệ sự kết tụ của các hạt. Khi một mẫu có chứa amikacin được thêm vào, phản ứng kết tụ bị ức chế một phần, làm chậm lại tỷ lệ thay đổi hấp thụ. Một đường cong nồng độ ức chế kết tụ có thể đạt được với tốc độ tối đa sự kết tụ ở nồng độ amikacin thấp nhất và chậm nhất ở nồng độ amikacin cao nhất.

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

### 2. Phương tiện hóa chất

#### 2.1. Phương tiện

- Các máy, thiết bị phân tích: Architect c4000, Architect c8000, Architect c16000 và một số máy khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất, calibrator, control và mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại
- Ống chứa mẫu bệnh phẩm
- Đầu pipet tùy chọn
- Giá chứa mẫu bệnh phẩm

#### 2.2 Hóa chất



- Multigen Amikacin Reagent (Bộ Thuốc thử) bao gồm:
  - + Hóa chất R1: 2 x21 mL : Anti –amikacin monoclonal Antibody (mouse) <1.0%
  - + Hóa chất R2: 2 x8 mL: Amikacin-coated microparticles < 0.5%
- MULTIGENT Amikacin Calibrators
- Chất kiểm chuẩn QC ở các mức khác nhau
- Nước muối sinh lý : Saline (0.85% to 0.90% NaCl)

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như lithium heparin, EDTA,..
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Bệnh phẩm được tách huyết thanh, huyết tương để ổn định 2-8<sup>0</sup>C trong 2 ngày hoặc 3 tháng ở -20<sup>0</sup>C

### **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 Amikacin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Amikacin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Amikacin 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).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm 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**

### **1. Giá trị tham chiếu**

Khi suy thận, chỉ dùng amikacin khi thật cần và điều chỉnh liều theo sự thay đổi nồng độ creatinin máu hoặc độ thanh thải creatinin. Phải giám sát chức năng thận và thính giác. Cần phải kiểm tra nồng độ thuốc trong huyết thanh

Sau khi tiêm bắp 1 liều đơn 7,5 mg/kg amikacin cho người lớn có chức năng thận bình thường nồng độ đỉnh huyết tương 17 - 25 microgam/ml đạt được trong 45 phút đến 2 giờ. Khi truyền tĩnh mạch cùng liều trong 1 giờ, nồng độ đỉnh thuốc trong huyết tương trung bình 38 microgam/mL đạt ngay sau khi truyền.

Nửa đời huyết thanh là 2 - 3 giờ ở người có chức năng thận bình thường và 30 - 86 giờ ở người bị suy chức năng thận nặng. Nửa đời huyết thanh là 4 - 5 giờ ở trẻ nhỏ 7 ngày tuổi để đủ tháng hoặc trên 7 ngày tuổi, 7 - 8 giờ ở trẻ đẻ nhẹ cân 1 - 3 ngày tuổi.

Ở người lớn có chức năng thận bình thường, 94 - 98% liều đơn, tiêm bắp hoặc tĩnh mạch, đào thải không biến đổi qua cầu thận trong vòng 24 giờ

Căn cứ vào nồng độ thuốc trong huyết thanh và mức độ suy giảm của thận, đối với người suy thận, có thể dùng các liều 7,5 mg/kg thể trọng, theo các khoảng cách thời gian ghi trong bảng dưới đây, tùy thuộc vào nồng độ creatinin huyết thanh hoặc vào độ thanh thải creatinin.

| <b>Creatinin huyết thanh</b> | <b>Độ thanh thải creatinin</b> | <b>Khoảng cách liều</b> |
|------------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| (micromol/L )                | (ml/phút/1,7 m <sup>2</sup> )  | (giờ)                   |
| <= 110                       | > 100                          | 12                      |
| 111 - 150                    | 100 - 55                       | 15                      |
| 151 - 200                    | 54 - 40                        | 18                      |
| 201 - 255                    | 39 - 30                        | 24                      |
| 256 - 335                    | 29 - 22                        | 30                      |
| >= 335                       | < 22                           | 36 hoặc lâu hơn nữa     |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

- Trong những trường hợp rất hiếm gặp, các mẫu bệnh phẩm có thể chứa các kháng thể heterophile, có thể cho kết quả thấp với xét nghiệm Amikacin MULTIGENT. Các kháng thể interfering heterophile xảy ra ở một tần số thấp trong dân số nói chung. Những kháng thể này có thể gây ra sự kết tụ tự nhiên trong phản ứng dẫn đến kết quả thấp không được phát hiện.
- Với mục đích chẩn đoán, các kết quả xét nghiệm phải luôn được đánh giá kết hợp với tiền sử bệnh, khám lâm sàng và các phát hiện khác của người bệnh.

# **ĐỊNH LƯỢNG ANDROSTENEDION MÁU**

## **theo kỹ thuật hóa phát quang**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Androstenedion được định lượng bằng phương pháp miễn dịch enzym hoá phát quang cạnh tranh.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

#### **2. Phương tiện, hóa chất:**

##### **2.1. Phương tiện:**

Hệ thống máy miễn dịch tự động như IMMULITE 2000.

Máy ly tâm

##### **2.2. Hoá chất**

Thuốc thử androstenedion

Vật liệu kiểm tra (QC)

Nước cất

#### **3. Người bệnh:**

Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm:**

- Huyết thanh.

Không sử dụng huyết tương chống đông bằng EDTA hay heparin.

- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông hoàn toàn trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Ly tâm, sau đó tách huyết thanh.
- Mẫu bệnh phẩm nhiễm mỡ, huyết tán, vàng da có thể gây sai số cho kết quả XN.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 24 giờ.
- Bảo quản bệnh phẩm ở - 20°C được 2 tháng.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật:**

- Ly tâm ống máu trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.

- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy miễn dịch IMMULITE 2000.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:

*Hàng ngày* : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.

*Định kỳ* : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Giá trị tham chiếu:**

Giá trị tham chiếu của androstenedion:

Nam: 2,1 – 10,8 nmol/L (0,6 – 3,1 ng/mL )

Nữ: 1,0- 11,5 nmol/L (0,3- 3,3 ng/mL )

##### **2. Ý nghĩa lâm sàng:**

Androstenedion là một steroid, tiền chất chính của testosterone và estron. Giá trị lâm sàng của androstenedion: thường tăng trong chứng rậm lông và nam hoá. Không giống như androgen dehydroepiandrosteron vỏ thượng thận và dẫn xuất sulfat hoá của nó, androstenedion trong máu có nguồn gốc từ cả tuyến vỏ thượng thận và buồng trứng. Nồng độ androstenedion máu tăng hằng định từ khi 7 tuổi và giảm dần sau khi 30 tuổi. Androstenedion có sự biến thiên trong ngày và theo chu kỳ kinh nguyệt, cao nhất vào buổi sáng và giữa kỳ kinh. Khi mang thai, nồng độ androstenedion máu tăng.

#### **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.**

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

## **12.ĐỊNH LƯỢNG ANPHA 1 MICROGLOBULIN NIỆU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Anpha 1 microglobulin là 1 glycoprotein có trọng lượng phân tử nhỏ, khoảng 33 000 dalton. Nó được tổng hợp tại gan và được phân bố rộng rãi trong dịch cơ thể. Anpha 1 microglobulin được lọc qua cầu thận, tái hấp thu tại đoạn đầu ống thận. Nồng độ anpha 1 microglobulin cao trong nước tiểu chỉ ra sự phá hủy ống thận như trong bệnh viêm thận, đái tháo đường có biến chứng thận sớm, sau ngộ độc kim loại nặng hoặc ngộ độc thuốc.

Anpha 1 microglobulin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Độ đục được tạo nên bởi phức hợp kháng nguyên kháng thể.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1.Người thực hiện:**

- 1 cán bộ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả;
- 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

#### **2.Phương tiện và hóa chất:**

##### **2.1.Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm hóa sinh tự động
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

##### **2.2.Hóa chất:**

- Hóa chất định lượng phù hợp như của DIALAB, ...
- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng, ....

**3. Người bệnh:** cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Theo đúng quy định của bộ y tế và bệnh viện
- Thực hiện theo y lệnh của bác sỹ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm ghi đầy đủ thông tin của người bệnh bao gồm họ và tên, tuổi, giới, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký, họ tên bác sỹ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy máu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và ngày giờ lấy mẫu bệnh phẩm

### **III.CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1.Lấy bệnh phẩm:**

Mẫu bệnh phẩm là nước tiểu sạch, được ly tâm loại bỏ cặn trong vòng 5 phút ở 3000 vòng/ phút.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Kiểm tra chất lượng: thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 2 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Khoảng tham chiếu:**

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh.
- Người lớn trưởng thành: < 12mg/L

### **2. Tăng trong:** viêm thận, giai đoạn sớm biến chứng thận ở người bệnh đái tháo đường, ngộ độc kim loại nặng, ngộ độc thuốc gây độc đối với thận

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

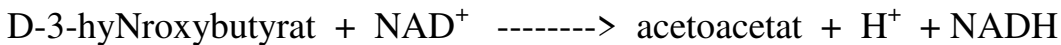
Kết quả có thể bị ảnh hưởng bởi cặn của nước tiểu nên phải ly tâm trước khi phân tích.

## **ĐỊNH LƯỢNG BETA-HYDROXYBUTYRAT MÁU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Theo phương pháp enzyme đo quang

3-hydroxybutyrat dehydrogenase



Phương pháp động học enzyme được sử dụng để định lượng D-3-hydroxybutyrat trong huyết thanh/ huyết tương. D-3-hydroxybutyrat được oxy hoá thành acetoacetat dưới tác dụng xúc tác của enzym 3-hydroxybutyrate dehydrogenase. Sự thay đổi mật độ quang tại bước sóng 340 nm tỷ lệ với nồng độ D-3-hydroxybutyrat trong mẫu bệnh phẩm.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

#### **2. Phương tiện, hóa chất:**

##### **2.1. Phương tiện**

- Máy hóa sinh tự động
- Máy ly tâm

##### **2.2. Hoá chất:**

- Thuốc thử định lượng D-3-hydroxybutyrat (hãng Randox). Thuốc thử ổn định 30 ngày trên khay thuốc thử.
- Huyết thanh kiểm tra mức 1
- Huyết thanh kiểm tra mức 2
- Huyết thanh chuẩn
- Nước cất

**3. Người bệnh:** cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm:**

- Huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin hay EDTA.
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Ly tâm sau đó tách huyết thanh/ huyết tương ngay.
- Chỉ rẽ đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rẽ đông.

## 2. Tiến hành kỹ thuật:

- Chuẩn bị máy sinh hóa tự động: chuẩn xét nghiệm (nếu cần) và tiến hành nội kiểm tra chất lượng (chạy QC) cho xét nghiệm beta-hydroxybutyrat.
- Nhận mẫu bệnh phẩm từ các khoa lâm sàng.
- Xác định mã phòng xét nghiệm (lab barcode) trên hệ thống mạng thông tin phòng xét nghiệm và mạng bệnh viện.
- Ly tâm mẫu bệnh phẩm trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/phút.
- Đưa vào máy phân tích.
- Vận hành máy theo quy trình vận hành máy Beckman Coulter AU 2700/AU680.
- Duyệt kết quả
- Kiểm soát chất lượng: *Hàng ngày* : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.

*Định kỳ* : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

**1.Giá trị tham chiếu:** Khoảng tham chiếu: Lúc đói 0.03- 0.3 mmol/L

### 2.Ý nghĩa lâm sàng:

Thể ceton gồm 3 chất: D-3-hydroxybutyrat, acetoacetat, aceton. Bình thường, một lượng nhỏ thể ceton- sản phẩm của thoái hoá acid béo- được tạo thành ở gan. Chỉ một lượng rất nhỏ thể ceton có trong máu, trong đó 78% là D-3-hydroxybutyrat, 20% là acetoacetat và 2% aceton.

Định lượng D-3-hydroxybutyrat cho phép chẩn đoán phân biệt các loại nhiễm toan chuyển hoá. Các bệnh / tình trạng gây tăng D-3-hydroxybutyrat trong máu (ketonemia) và xuất hiện ceton niệu (ketonuria):

- Đói, stress nặng về thể chất
- Nhiễm toan ceton trong đái đường: chủ yếu trong đái đường typ 1
- Nhiễm toan ceton trong nghiện rượu
- Rối loạn chuyển hoá bẩm sinh: bệnh acid hữu cơ niệu, nhiễm toan acid lactic, khiếm khuyết quá trình tân tạo glucose, bệnh fructose niệu, MSUD, galactose niệu, tyrosinemia I.
- Tăng ceton máu trong viêm tụy cấp

## IV.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác



# **ĐỊNH LƯỢNG BTP (BETA TRACE PROTEIN)**

## **I. NGUYÊN LÝ**

### **1. Tổng quan**

*Beta-Trace Protein* (BTP), còn gọi là prostaglandin D2 synthase, một loại protein có khối lượng phân tử thấp khoảng 24 kDa (tùy vào mức độ glycosyl hóa) và một bộ phận của họ protein lipocalin. BTP chủ yếu được tổng hợp ở hệ thần kinh trung ương bởi các tế bào thần kinh đệm và đám rối màng mạch và tạo thành một trong những thành phần thiết yếu của dịch não tủy (CSF). BTP hiện diện trong tất cả các loại mô (ngoại trừ ở buồng trứng) và có thể được tìm thấy trong các loại dịch sinh học trong cơ thể. BTP được lọc qua thận nên nồng độ BTP trong huyết tương sẽ phụ thuộc vào mức lọc cầu thận (GFR). Ở người bệnh chạy thận nhân tạo, BTP là một chất chỉ điểm thay thế cho chức năng thận còn lại, tiên lượng người bệnh cần phải điều trị thay thế thận (như chạy thận nhân tạo hoặc thẩm phân phúc mạc). Nồng độ BTP trong dịch não tủy cao hơn nhiều so với trong huyết thanh hoặc huyết tương, do vậy BTP trở thành một chất chỉ điểm lý tưởng để phát hiện rò rỉ dịch não tủy trong các chất bài tiết của mũi hay tai sau chấn thương hoặc tổn thương do phẫu thuật sọ não.

### **2. Nguyên lý xét nghiệm**

Định lượng theo phương pháp tua miễn dịch đo độ đục. Trong thuốc thử, các hạt polystyrene phủ kháng thể kháng BTP ở người sẽ ngưng kết khi trộn với các mẫu bệnh phẩm có chứa BTP. Trên máy phân tích ngưng kết này làm phân tán chùm ánh sáng đi qua cuvet có chứa mẫu phân tích. Cường độ ánh sáng phân tán tỷ lệ thuận với nồng độ của BTP trong mẫu bệnh phẩm. Kết quả phân tích được xác định dựa trên đường chuẩn đã thiết lập.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

### **2. Phương tiện hóa chất**

#### **a. Phương tiện**

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

#### **b. Hoá chất**

**Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc**

- N latex BTP hóa chất chính:

- Các hạt polystyrene được phủ kháng thể kháng BTP của người được sản xuất từ thỏ, dạng đông khô và chất bảo quản Sodium azide < 1g/L.
- Đóng gói: 3x 2.0 mL
- Bảo quản: ổn định 2–8 °C cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp thuốc
- N latex BTP hóa chất phụ:
- Immunoglobulin thỏ trong dung dịch đệm và chất bảo quản Sodium azide < 1g/L.
- Đóng gói: 3x 0.6 mL
- Bảo quản: ổn định 2–8 °C cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp thuốc

#### **Vật liệu QC, dung dịch pha loãng và tiêu hao**

- N Protein Standard UY: chất hiệu chuẩn
- N Protein Control LC: chất QC mức độ 1 khi thực hiện xét nghiệm với mẫu huyết thanh/huyết tương
- N Protein Control LC2: chất QC mức độ 2 1 khi thực hiện xét nghiệm với mẫu huyết thanh/huyết tương
- N/T Protein Control LC: chất QC khi thực hiện xét nghiệm với mẫu nước tiểu, dịch não tủy, dịch tiết từ tai/mũi
- N Diluent: dung dịch pha loãng mẫu huyết thanh/huyết tương
- N Sample Diluent: dung dịch pha loãng mẫu nước tiểu, dịch não tủy, dịch tiết từ tai/mũi
- BN II Evaporation Stoppers: nắp đậy hoá chất & QC khi trữ trên máy để chống bay hơi

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Mẫu bệnh phẩm thích hợp bao gồm mẫu huyết thanh, mẫu huyết thanh heparin và EDTA, mẫu nước tiểu, mẫu dịch não tủy, dịch tiết mũi và/hoặc tai.

Mẫu huyết thanh/huyết tương:

- Ly tâm mẫu: 10 phút ở 15000 x g. Kiểm tra mẫu: mẫu huyết thanh không được chứa hạt nhỏ hoặc dấu tích của fibrin. Mẫu bị đục như mẫu lipid, mẫu nước tiểu đục, hoặc mẫu để đông lạnh cần được làm trong hoàn toàn sau khi ly tâm
- Mẫu tự động được hệ thống pha loãng 1:100. Mẫu đã pha loãng dùng trong vòng 2 giờ.

Mẫu nước tiểu/dịch não tủy/dịch tiết mũi và/hoặc tai

- Ly tâm mẫu (10 phút ở 15000 x g)
- Pha loãng mẫu bằng tay: pha loãng tỉ lệ 1:5 với N Sample Diluent. Trường hợp lượng mẫu ít pha loãng tỉ lệ 1:20 với NaCl đẳng trương hoặc N diluent

Mẫu huyết thanh, huyết tương EDTA/heparin và mẫu dịch não tủy nên được thực hiện xét nghiệm ngay hoặc lưu trữ không quá 7 ngày ở 2–8 °C hoặc lưu trữ không quá 3 tháng ở -20 °C hoặc ở nhiệt độ thấp hơn (trong trường hợp được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và tránh chu kỳ rã đông/đông mẫu nhiều lần).

Mẫu nước tiểu, dịch tiết từ mũi/tai nên được thực hiện xét nghiệm ngay. Không được sử dụng mẫu nước tiểu đã được trữ đông.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm BTP. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm BTP. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm BTP 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).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm 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**

### **1. Giá trị tham chiếu**

- BTP trong mẫu huyết thanh  $\leq 0,70$  (0,50) mg/L
- BTP trong mẫu nước tiểu  $\leq 3,75$  (1, 11) mg/L
- BTP trong dịch não tủy, dịch tiết:  
 BTP trong dịch tiết  $< 0,7$  mg/L: không có khả năng rò rỉ dịch não tủy trong dịch tiết  
 BTP trong dịch tiết  $\geq 1,3$  mg/L: có khả năng rò rỉ dịch não tủy trong dịch tiết  
 BTP trong dịch tiết 0,7-1,29 mg/L: tính tỉ lệ dịch tiết/huyết thanh: nếu  $< 2$  không có khả năng rò rỉ; nếu  $\geq 2$ , có khả năng rò rỉ dịch não tủy.

(Giá trị mang tính tham khảo, có thể xem xét thiết lập giá trị tham chiếu riêng của PXN)

BTP là một chất chỉ điểm lý tưởng để phát hiện rò rỉ dịch não tủy trong các chất bài tiết của mũi hay tai sau chấn thương hoặc tổn thương do phẫu thuật sọ não.

## **2. Tăng trong trường hợp**

Tăng trong mẫu dịch tiết: có khả năng rò rỉ dịch não tủy trong các chất bài tiết của tai/ mũi

Tăng trong mẫu huyết thanh: chức năng thận còn lại giảm

- Nồng độ BTP ở những người bệnh lọc thận cao gấp khoảng 15 lần (so với đối tượng khỏe mạnh).<sup>1</sup>
- Nồng độ BTP trên 8,2 mg/L cho thấy hầu như mất hoàn toàn chức năng thận.
- Nồng độ BTP tăng trên 8,8 mg/L đi kèm với tỉ lệ tử vong cao hơn 63%.

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Mẫu huyết thanh/huyết tương cần được kiểm tra để đảm bảo mẫu huyết không được vẩn đục hoặc có dấu tích của fibrin. Mẫu bị đục như mẫu lipid, mẫu nước tiểu đục, hoặc mẫu để đông lạnh cần được làm trong hoàn toàn sau khi ly tâm (10 phút ở 15000 g). Nếu mẫu không đảm bảo cần được loại bỏ và lấy lại mẫu mới làm xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG C1- ESTERASE INHIBITOR MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Human C1-esterase inhibitor là một chất điều hòa quan trọng trong quá trình hoạt hóa bổ thể, nó ức chế hoạt động của enzyme serine proteases C1s và C1r4. Trong phản ứng hóa miễn dịch, protein có trong mẫu bệnh phẩm (huyết tương/huyết thanh) hình thành phức hợp miễn dịch với kháng thể đặc biệt. Phức hợp này sẽ phản xạ ánh sáng xuyên qua mẫu, cường độ của ánh sáng phản xạ tỉ lệ với nồng độ của protein cần đo trong mẫu. Kết quả được so sánh với một chất chuẩn đã biết nồng độ.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

- Người thực hiện có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyên mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

#### **2.2. Hoá chất**

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử định lượng Human C1-Inhibitor
- Chất chuẩn
- Vật liệu kiểm tra chất lượng (IQC)

### **3. Người bệnh:**

Người bệnh và người nhà cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm:**

Mẫu bệnh phẩm có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (Citrat). Mẫu được pha loãng tự động 1:5 bằng N Diluent và cần được đo trong vòng 4 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 C1 Inhibitor. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm C1 Inhibitor. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm C1 Inhibitor đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- 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).

- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV.NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Giá trị tham chiếu: Mẫu huyết thanh: 0,21 – 0,39 g/L.

Mẫu huyết tương Citrat: 0,18 – 0,32 g/L

Định lượng C1 inhibitor hỗ trợ trong việc chẩn đoán bệnh phù mạch do di truyền (tăng tính thấm mạch máu dẫn tới sưng mô) và một dạng phù mạch liên quan tới bệnh u lympho. Thiếu hụt C1 Inhibitor xảy ra với các bệnh về hệ thống tế bào B, có thể liên quan tới mức độ C1 Inhibitor giảm như bệnh bạch cầu lympho mạn, hoặc đa u tủy.

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Mẫu bệnh phẩm đục và các hạt trong mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm; do đó, đối với các mẫu có chứa các hạt cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm. Không sử dụng các mẫu máu nhiễm mỡ và đục mà không thể làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại 15000g)

# **ĐỊNH LƯỢNG CALPROTECTIN TRONG PHÂN**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Calprotectin hay neutrophil cytoplasmic protein A100A8/A9 là protein thuộc họ S100 hiện diện chủ yếu trong bào tương của bạch cầu đa nhân trung tính. Trong trường hợp ruột bị viêm, niêm mạc ruột bị tổn thương và các hạt trong tế bào bạch cầu đa nhân trung tính vỡ ra phóng thích calprotectin vào phân. Định lượng calprotectin trong phân giúp phát hiện và đánh giá mức độ của bệnh viêm ruột (inflammatory bowel disease : IBD) bao gồm viêm loét ruột (ulcerative colitis) và bệnh Crohn's.

Nguyên tắc xét nghiệm: theo nguyên tắc xét nghiệm miễn dịch hấp phụ bổ thể gắn kết men. Chuẩn, QC, mẫu phân được xử lý (mẫu pha loãng III) chứa calprotectin được thêm vào các giếng có gắn kháng thể đơn dòng ái lực cao kháng calprotectin người. Trong giai đoạn ủ ban đầu, calprotectin gắn với kháng thể bất động. Sau đó kháng thể thứ hai kháng calprotectin người gắn với enzym peroxidase được thêm vào các giếng, phức hợp bánh kẹp trả được tạo thành giữa calprotectin và 2 kháng thể. Tetramethylbenzidin được dùng làm cơ chất cho enzym peroxidase. Cuối cùng, dung dịch acid được thêm vào để dừng phản ứng. Màu sắc chuyển từ xanh da trời sang màu vàng. Cường độ màu vàng tỷ lệ thuận với nồng độ calprotectin. Đường chuẩn mỗi liên quan giữa mật độ quang và nồng độ dung dịch chuẩn được thiết lập (bước sóng 450 nm). Nồng độ calprotectin trong mẫu thử được tính dựa vào đường chuẩn.

Định lượng Calprotectin dựa trên 2 nguyên lý:

- ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay): xét nghiệm hấp phụ bổ thể gắn kết enzym.
- Hóa phát quang trực tiếp

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

**2.1. Phương tiện:**

- Hệ thống ELISA bán tự động
- Máy miễn dịch Liaison

**2.2. Hóa chất**

- Kít định lượng Calprotectin trong phân
- Kít xử lý mẫu phân (Stool sample application System - SAS)
- Pipet
- Tủ lạnh.
- Nước cất tinh khiết

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy phân để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

- Phân là loại mẫu sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy phân vào lọ đựng phân theo quy trình lấy phân thông thường
- Độ ổn định của mẫu:
- Phân chưa xử lý ổn định 2 ngày ở nhiệt độ phòng (15- 30°C), 2 ngày ở 2-8°C, và dài ngày ở -20°C.
- Mẫu chiết tách từ phân ổn định 9 ngày ở nhiệt độ phòng, 2-8°C hoặc - 20°C, tối đa 3 lần rã đông.

**2. Chiết tách mẫu phân (xử lý mẫu phân)**

- Pha loãng dung dịch đậm IDK (Extract buffer concentrate IDK extract): tỷ lệ pha loãng là 1: 2,5 với nước siêu tinh khiết. Ví dụ: 100 mL đậm cô đặc thêm 150 mL nước tinh khiết, trộn đều. Trước khi pha loãng, cần làm tan cặn muối nếu có bằng bể ấm 37°C. Dung dịch đậm pha loãng ổn định 3 tháng ở 2-8°C khi đựng trong bình kín.
- Xử lý phân với hệ số pha loãng 1:100. Các bước tiến hành như sau:
  - a. Phân được đồng nhất hoá
  - b. Cho vào ống chiết tách phân 1,5 mL dung dịch đậm pha loãng. Lưu ý để dung dịch đậm về nhiệt độ phòng (nếu sử dụng loại ống đã chứa dung dịch đậm thì không cần cho đậm vào nữa)
  - c. Mở nắp ống chiết tách phân phần màu vàng cam. Nhúng que màu vàng cam vào trong mẫu phân. Phần dưới của que này có các vết khía, cần được làm đầy bằng phân sau khi nhúng vào mẫu phân. Sau khi lấy phân, cho que nhúng trở lại ống chiết tách. Khi đưa que nhúng vào ống, lượng phân thừa sẽ bị giữ lại, chỉ để cho 15 mg mẫu hoà vào dung dịch đậm. Đậy chặt nắp của ống chiết tách phân.



- d. Lắc kỹ ống chiết tách phân cho đến khi phân không còn bám vào các vết khía của que nhúng. Nếu mẫu phân rắn, lắc khoảng 10 phút để đảm bảo tạo dịch treo thuần nhất.
- e. Để mẫu 10 phút cho tới khi cần lắng lại. Bỏ qua các vật nổi như vỏ hạt.
- f. Carefully mở nắp ống bao gồm cả phần xanh da trời và que nhúng. Bỏ nắp và que nhúng. Đảm bảo chất lắng không bị khuấy trộn. Ta được mẫu pha loãng I 1:100.
- g. Pha loãng mẫu để làm xét nghiệm: Dịch nổi ở ống tách chiết trên (mẫu pha loãng 1:100) được pha loãng tiếp với tỷ lệ 1: 25 bằng SAMPLEBUF. Ví dụ: 40 µl dịch nổi + 960 µl SAMPLEBUF, trộn đều ta được mẫu pha loãng II (1:25).
- h. Như vậy, tỷ lệ pha loãng cuối cùng là 1: 2500.
- i. Để làm xét nghiệm, hút 100 µl mẫu pha loãng II cho vào 1 giếng.

### 3. Tiến hành kỹ thuật

Tùy phòng xét nghiệm có trang thiết bị là máy Liaison hay hệ thống ELISA sẽ có các bước tiến hành theo protocol. Với hệ ELISA thao tác như sau:

- Để thuốc thử và mẫu ở nhiệt độ phòng, lắc đều
- ELISA wash buffer concentrate cần pha loãng 1:10 bằng nước tinh khiết trước khi sử dụng. Trước khi pha loãng, cần làm tan cặn muối nếu có ở nhiệt độ phòng hoặc bằng bể ấm 37°C. Dung dịch rửa pha loãng ổn định 1 tháng ở 2- 8°C.
- Chuẩn và QC: Pha loãng bằng 500 µl nước tinh khiết. Trộn nhẹ nhàng để đảm bảo hoà tan hoàn toàn và để ổn định 10 phút. Chuẩn và QC hoàn nguyên ổn định 4 tuần ở 2-8°C.
- Đánh dấu vị trí chuẩn, QC và mẫu thử trên giấy.
- Lấy số lượng microstrip cần dùng ra.
- Thêm 100 µl chuẩn, QC, mẫu thử vào các giếng tương ứng.
- Đậy kín các giếng lại và ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng (15- 30°C)
- Loại bỏ tất cả các chất chứa trong giếng. Rửa mỗi giếng 5 lần bằng cách thêm 250 µl wash buffer pha loãng vào mỗi giếng. Sau lần rửa cuối cùng, loại bỏ đệm còn dính ở giếng bằng gõ đĩa trên giấy thấm.
- Thêm 100 µl conjugate vào mỗi giếng
- Đậy kín đĩa và ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng (15- 30°C)
- Loại bỏ tất cả các chất chứa trong giếng. Rửa mỗi giếng 5 lần bằng cách thêm 250 µl wash buffer pha loãng vào mỗi giếng. Sau lần rửa cuối cùng, loại bỏ đệm còn dính ở giếng bằng gõ đĩa trên giấy thấm.
- Thêm 100 µl cơ chất (SUB) vào mỗi giếng
- Ủ 10-20 phút ở nhiệt độ phòng (15- 30°C) trong bóng tối
- Thêm 100 µl dung dịch dừng phản ứng (STOP) vào mỗi giếng, lắc kỹ

- Đo mật độ quang ngay lập tức bằng ELISA reader tại bước sóng 450 nm, đối chiếu với bước sóng 620 nm (hoặc 690 nm). Nếu không có bước sóng phụ, chỉ đo ở 450 nm. Nếu mật độ quang của dung dịch chuẩn cao nhất vượt quá dải của máy đo quang, ngay lập tức đo mật độ quang ở 405 nm đối chiếu với bước sóng 620 nm.

#### ***Tính kết quả:***

Có thể sử dụng 1 trong 3 phương pháp sau để tính kết quả, tuy nhiên nhà sản xuất khuyến cáo sử dụng phương pháp “4 parameter algorithm”.

- 4 parameter algorithm: trục tung tuyến tính là mật độ quang, trục hoành logarit là nồng độ. Khi sử dụng trục hoành logarit, chuẩn 0 phải có giá trị nhỏ hơn 1 (ví dụ 0,001).
- Point- to-point calculation: trục tung tuyến tính là mật độ quang, trục hoành tuyến tính là nồng độ
- Spline algorithm: trục tung tuyến tính là mật độ quang, trục hoành tuyến tính là nồng độ

*Kết quả thu được nhân với 2500 để được nồng độ trong mẫu phân.*

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Giá trị tham chiếu:

| <b><i>Tuổi</i></b> | <b><i>Calprotectin (mg/kg)</i></b> |
|--------------------|------------------------------------|
| 0 -3 tháng         | 195- 621                           |
| 3 - 6 tháng        | 85-988                             |
| 6 - 12 tháng       | 109- 418                           |
| 1 - 4 tuổi         | 53- 119                            |
| 4- 17 tuổi         | < 50                               |
| Người lớn          | < 50                               |

- ✓ Trả lời kết quả xét nghiệm với dải giá trị tham chiếu.
- ✓ Báo với bác sĩ lâm sàng nếu kết quả bất thường.
- ✓ Chỉ định của calprotectin trong phân:
  - Viêm cấp tính
  - Đánh giá mức độ viêm dạ dày- ruột
  - Theo dõi bệnh Crohn, viêm loét đại tràng, người bệnh sau cắt polyp
  - Phân biệt bệnh viêm ruột cấp với hội chứng kích ứng ruột.

#### **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Xử lý mẫu không chính xác.
- Mẫu phân quá lỏng kết quả khó chính xác.

## **ĐỊNH LƯỢNG CDT (CARBOHYDRATE-DEFICIENT TRANSFERRIN) MÁU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Thành phần chính của transferrin huyết thanh là glycoprotein với khối lượng phân tử khoảng 80kD chứa hai chuỗi bên polysaccharide. Mỗi chuỗi bên chứa hai gốc đầu axit sialic. Tuy nhiên, transferrin trong huyết thanh người biểu hiện ở các đồng phân khác nhau với mức độ glycolization khác nhau. Tetrasialoform với hai chuỗi bên carbohydrate, mỗi chuỗi được đặc trưng bởi hai gốc đầu axitsialic, biểu hiện trên khoảng 90% người khỏe mạnh. Phân tử transferrin với một chuỗi bên carbohydrate (disialotransferrin) hoặc thậm chí là không có chuỗi carbohydrate (asialotransferrin) hiện diện ở những người sử dụng rượu. Các đồng phân này cũng như các đồng phân khác có sự thay đổi cấu trúc do sử dụng rượu được gọi là CDT (carbohydrate-deficient transferrin)

Như một quy luật, việc tiêu thụ rượu hàng ngày với khoảng 50-60 g ethanol trên hai tuần dẫn đến tăng mức CDT. Giá trị tăng CDT được mong đợi trở về giá trị bình thường sau khi ngừng sử dụng rượu trong khoảng hai đến bốn tuần, phụ thuộc vào độ nghiêm trọng của mức CDT.

Việc xác định CDT đóng góp quan trọng vào việc nhận diện người bệnh nghiện rượu mạn tính, theo dõi sự thay đổi trong tiêu thụ và ngừng sử dụng rượu. Nhiều nghiên cứu cho thấy CDT là một trong những dấu ấn đặc hiệu cho tiêu thụ rượu cao trong khoảng thời gian dài.

Các bệnh không do rượu có thể làm tăng CDT bao gồm viêm gan mạn hoạt động, xơ gan mật nguyên phát, suy gan và hội chứng hiếm gặp CDG (carbohydrate-deficient glycoprotein).

Việc tính toán %CDT từ CDT và transferrin cho phép giảm thiểu ảnh hưởng của mức chuyển vị, tình trạng sắt, và giới hạn từ thấp đến trung bình của chức năng gan trên kết quả CDT. Có thể nâng cao độ đúng chẩn đoán bằng cách kết hợp CDT và  $\gamma$ GT( $\gamma$ -glutamyltransferase)

**Nguyên lý xét nghiệm:** Hóa phát quang miễn dịch cạnh tranh.

CDT trong mẫu bệnh phẩm cạnh tranh với hạt polystyrene được phủ CDT để liên kết với kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CDT người, các kháng thể này cũng được liên kết với hạt polystyrene. Với sự hiện diện của CDT trong mẫu, các hạt polystyrene không có hoặc ít ngưng kết. Ngược lại, nếu mẫu không có CDT, sẽ có sự ngưng kết các hạt polystyrene. CDT càng cao, thì tín hiệu ánh sáng phát xạ càng thấp. Kết quả được xác định bằng cách so sánh chuẩn đã biết nồng độ.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động.

## **2. Phương tiện hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy phân tích: BN ProSpec, ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cồn sát trùng, găng tay, ...

### **2.2. Hoá chất**

#### **Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc**

##### *Thuốc thử chính NCDTReagent1*

- Hỗn dịch của hạt polystyrene được phủ bởi carbohydratedeficient transferrin ( $< 0.017\text{g/L}$ ).
- Đóng gói: 3 x 0.9 mL

##### *Thuốc thử chính NCDTReagent2*

- Hỗn dịch của hạt polystyrene được phủ với kháng thể kháng CDT đơn dòng (chuột) ( $< 9\text{mg/L}$ ).
- Đóng gói: 3 x 0.9 mL

##### *Thuốc thử phụ NCDTSupplementaryReagent*

- Dung dịch muối đệm phosphate với polyethyleneglycolsorbitanmonolaurate ( $5\text{g/L}$ ) và EDTA ( $< 0.2\text{mol/L}$ ).
- Đóng gói: 3 x 2 mL

##### *Chất hiệu chuẩn NCDTStandardSL*

- Huyết thanh người ổn định và CDT. Nồng độ CDT đã được hiệu chuẩn với CDT tham chiếu tinh khiết
- Đóng gói: 3 x 1 mL

##### *Chất kiểm chuẩn NCDTControlSL/1 và NCDTControlSL/2*

- Mỗi loại bao gồm nền huyết thanh người ổn định và CDT. Nồng độ của CDT được hiệu chuẩn với NCDTStandard SL tham chiếu.
- Đóng gói: 3 x 1 mL

##### *Chất bảo quản*

- NCDTReagent1 và NCDTReagent2: Gentamicin  $6.25\text{mg/L}$ , Amphotericin  $0.625\text{mg/L}$
- NCDTSupplementaryReagent, NCDTStandardSL, NCDTControlSL/1 and

N CDT Contro SL/2: sodium azide < 1 g/L

### **2.2.1. Chuẩn bị thuốc thử**

Thuốc thử, chất hiệu chuẩn, chất kiểm chuẩn sẵn sàng cho sử dụng và không cần chuẩn bị. Lắc đều trước lần sử dụng đầu tiên.

### **2.2.2. Bảo quản và độ ổn định**

- Tránh ánh sáng, hộp chưa mở tại nhiệt độ 2 đến 8<sup>0</sup>C ổn định đến ngày hết hạn ghi trên nhãn của hộp
- Độ ổn định sau khi mở hộp thuốc:
  - Hai tuần cho tất cả các thuốc thử, chất hiệu chuẩn và chất kiểm chuẩn nếu bảo quản tại 2 đến 8<sup>0</sup>C, đây nắp cẩn thận ngay sau mỗi lần sử dụng. Không được để đông các thuốc thử.
- Thời gian ổn định trên máy: Ít nhất là ba ngày với tám giờ mỗi ngày hoặc lượng thời gian tương đương.

### **Hóa chất yêu cầu nhưng không được cung cấp trong hộp thuốc**

N Supplementary Reagent L

N Diluent

N Antiserum to Human Transferrin

N Protein Standard S

N/T Protein Control SL/L, M, H

N Reaction Buffer

## **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

## **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Mẫu thích hợp là mẫu huyết thanh, mẫu càng mới càng tốt (lưu tại nhiệt độ 2 đến 8 °C không quá 7 ngày). Mẫu có thể được lưu tại nhiệt độ -20 °C đến 3 tháng nếu mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và cần tránh chu trình kết đông-xả đông. Khi sử dụng mẫu huyết thanh khi đông lạnh cần

lấy ra cho rã đông hoàn toàn và sau đó ly tâm để loại trừ các hạt hoặc dấu vết của fibrin. Mẫu máu nhiễm mỡ hoặc mẫu bị đục sau khi rã đông cần phải được làm trong bằng cách ly tâm 15,000 x g /10 phút trước khi thực hiện xét nghiệm.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

### **2.1.Cách vận hành:**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CDT. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CDT. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CDT 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).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm 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.

#### **2.1. *Thành lập đường cong hiệu chuẩn***

Đường chuẩn được thành lập bởi các nồng độ chuẩn. Một chuỗi các pha loãng của N CDT Standard SL được thực hiện tự động bởi máy sử dụng N Diluent. Dung dịch chuẩn khi pha loãng có thể được sử dụng trong vòng 4 giờ. Đường cong chuẩn có hiệu lực trong vòng hai tuần và chỉ khi chất kiểm chuẩn như NCDTControl, SL/1 and SL/2 được lặp lại trong khoảng tin cậy tương ứng. Cần thiết lập đường cong chuẩn mới khi một lô thuốc thử mới được sử dụng. Khoảng đo chính xác phụ thuộc vào nồng độ protein của mỗi lô NCDTStandardSL.

#### **2.2. *Mẫu xét nghiệm***

Mẫu được pha loãng tự động 1:5 bằng NDiluent và cần được đo trong vòng 4 giờ. Việc lựa chọn độ pha loãng khác 1:5 là không được phép.

#### **2.3. *Nội kiểm***

Chạy NCDTControls SL/1 và SL/2 Sau mỗi lần thiết lập đường cong chuẩn, trước lần sử dụng đầu tiên của một lọ thuốc thử mới cũng như với mỗi lần chạy các mẫu. Mẫu IQC được thực hiện trong điều kiện giống như mẫu người bệnh.

Tuân theo các qui định hiện hành hoặc các yêu cầu về quản lý chất lượng cho tần suất chạy nội kiểm. Cần thực hiện lại nếu giá trị IQC nằm ngoài khoảng chấp nhận. Nếu kết quả chạy lại xác nhận sự sai lệch, cần tiến hành chạy lại chuẩn để thiết lập một đường cong chuẩn mới.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Sử dụng đơn vị mg / L hoặc bằng một đơn vị được người sử dụng lựa chọn trên hệ thống .

Ngoài ra, việc tính toán % CDT đã được tích hợp vào phần mềm của Hệ thống BN. Trong trường hợp xác định đồng thời CDT và transferrin từ cùng một mẫu, %CDT có thể được báo cáo thêm.

### ***Khoảng tham chiếu:***

Nghiên cứu 561 người khỏe mạnh từ Châu Âu và không sử dụng rượu, kết quả NLatexCDTReagent trong khoảng 28.1 – 76.0 mg/L CDT (bách phân vị thứ 1 đến thứ 99). Cũng với nhóm dân số này, %CDT trong khoảng 1.19 – 2.47% (bách phân vị thứ 1 đến thứ 99).

Tuy nhiên, mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu riêng vì giá trị có thể khác nhau theo từng nhóm dân số.

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi nồng độ triglycerid  $\leq 18.3$  mmol/L, bilirubin  $\leq 1026$   $\mu$ mol/L và hemoglobin tự do  $\leq 10$  g/L và yếu tố dạng thấp RF  $\leq 3390$  IU/mL.
- Chưa thấy có ảnh hưởng từ các loại thuốc thông thường.
- Mẫu bệnh phẩm đục và các hạt trong mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm; do đó, đối với các mẫu có chứa các hạt cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm. Không sử dụng các mẫu máu nhiễm mỡ và đục mà không thể làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại 15000 g)
- Đối với mẫu có chứa kháng thể heterophil có thể phản ứng miễn dịch và cho kết quả cao hoặc thấp hơn giá trị thực tế. Xét nghiệm này đã được thiết kế nhằm tối thiểu sự ảnh hưởng từ kháng thể heterophil. Tuy nhiên, sự loại bỏ tất cả ảnh hưởng này trên tất cả các mẫu người bệnh là không được đảm bảo.
- Đánh giá chẩn đoán của giá trị% CDT được thành lập với N Latex CDT bị hạn chế đối với các mẫu với nồng độ transferrin rất thấp ( $<1,2$  g / L transferrin).
- Những thay đổi từ người sử dụng sẽ không được khuyến cáo do có thể ảnh hưởng đến hiệu năng của máy và kết quả xét nghiệm. Người sử dụng có trách nhiệm thẩm định những sự thay đổi so với hướng dẫn trong Siemens Application Sheets hoặc IFU.
- Khi nhận định kết quả xét nghiệm luôn kết hợp cùng với tiền sử bệnh lý, biểu hiện lâm sàng và các ghi nhận khác. Do ảnh hưởng bởi chất nền, các mẫu khảo sát liên phòng xét nghiệm và các mẫu kiểm chuẩn có thể cho kết quả khác so với phương pháp khác. Do đó, cần đánh giá kết quả trong mối tương quan với giá trị mục tiêu cụ thể của phương pháp.

# ĐỊNH LƯỢNG CHÌ MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

Dựa trên nguyên lý phổ hấp thụ nguyên tử. Một lượng nhỏ mẫu được hóa hơi và nguyên tử hóa ở nhiệt độ cao trong ống graphit. Các nguyên tử chì (Pb) tự do sinh ra trong ống graphit hấp thụ tia sáng đơn sắc từ đèn catod (cathode) rỗng tạo thành phổ hấp thụ nguyên tử và được xác định bởi bộ phận phát hiện (detector) nhân quang điện.

## II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

### 2. Phương tiện, hóa chất

- Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử AA-7000 sử dụng lò điện GFA-7000
- Máy ly tâm
- Dung dịch chuẩn Pb 1g/L – Merck
- Whole blood control for trace elements, 3 mức: cho xét nghiệm chì máu
- ClinCheck Urine Control for trace elements, 2 mức: cho xét nghiệm chì niệu.
- Axit nitric đặc 65% Suprapure - Merck
- Triton X-100 - Sigma-Aldrich T9284
- Chất chống bọt Antifoam B - Sigma A6707
- Khí Argon có độ tinh khiết cao
- Nước khử ion
- Lọ nhựa PP 100 mL, 500 mL, 1000 mL
- Bình định mức 100 mL
- Ống nghiệm PP 15 mL
- Micropipet và đầu tip 10 mL, 1000 mL
- Ống Eppendorf 1,5 mL

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu tĩnh mạch để làm xét nghiệm định lượng chì máu.

### 4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.



- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Máu toàn phần tĩnh mạch chống đông bằng heparin hoặc EDTA
- Lượng mẫu cần 60  $\mu$ L mẫu máu cho mỗi phép đo
- Lưu ý: dụng cụ chứa mẫu BP không được phép nhiễm chì.

*(Khuyến cáo: Các dụng cụ được rửa bằng acid có thể sử dụng chứa BP và yêu cầu này phải được tuân thủ).*

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### - Chuẩn bị hóa chất

- + **Axit HNO<sub>3</sub> 6,5%:** Pha chuẩn

Cho khoảng 60 mL nước khử ion vào bình định mức 100 mL, thêm 10 mL axit HNO<sub>3</sub> đặc 65% vào, thêm nước khử ion định mức tới vạch 100mL, đầy nắp và lắc kỹ.

- + **Dung dịch pha loãng mẫu\_** (0,1% Triton X-100; 0,1% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> trong nước deion)

- + **Dung dịch rửa** ( 0.01% HNO<sub>3</sub> và 0.002% Triton X-100)

- + **Chuẩn bị các dung dịch chuẩn làm việc**

##### Xử lý mẫu

Chuẩn bị các ống Eppendorf 1,5 mL để xử lý mẫu

| Bước | Dung dịch                                        | Blank, chuẩn<br>từ 1-5 | MẫuQC       | Mẫu bệnh<br>phẩm |
|------|--------------------------------------------------|------------------------|-------------|------------------|
| 1    | Pha loãng mẫu                                    | 450 $\mu$ L            | 450 $\mu$ L | 450 $\mu$ L      |
| 2    | Blank hoặc chuẩn<br>từ 1- 5                      | 50 $\mu$ L             |             |                  |
| 3    | QC 3 mức cho máu                                 |                        | 50 $\mu$ L  | 50 $\mu$ L       |
| 4    | BP                                               |                        |             |                  |
| 5    | Trộn kỹ bằng máy lắc va cho sang cup để chạy máy |                        |             |                  |

##### Các thông số kỹ thuật của phương pháp

##### Các thông số quang học

- Bước sóng: 283.3 nm
- Độ rộng khe đo: 0.7 nm
- Đèn: BGC-D2

##### Chương trình lò

| Step No | Temp | Time (sec) | Heat mode | Sensitivity | Gas type | Flow rate |
|---------|------|------------|-----------|-------------|----------|-----------|
| 1       | 60   | 3          | RAMP      |             | #1       | 0.1       |
| 2       | 120  | 20         | RAMP      |             | #1       | 0.1       |
| 3       | 250  | 10         | RAMP      |             | #1       | 0.1       |
| 4       | 700  | 10         | RAMP      |             | #1       | 1         |
| 5       | 700  | 10         | STEP      |             | #1       | 1         |
| 6       | 700  | 3          | STEP      | v           | #1       | 0.0       |
| 7       | 2000 | 3          | STEP      | v           | #1       | 0.0       |
| 8       | 2500 | 2          | STEP      |             | #1       | 1         |

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

+ Báo cáo kết quả:

Đơn vị:  $\mu\text{mol/L}$  , lấy 1 số sau dấu phẩy

Giá trị tham chiếu:

- Chì trong máu:
- Trẻ em:  $< 10 \mu\text{g/dL}$  (CDC guideline)
- Phụ nữ có thai:  $< 10 \mu\text{g/dL}$  (CDC guidelines)
- Người lớn:  $< 30 \mu\text{g/dL}$  (ACGIH guidelines -American Conference of Governmental Industrial Hygienists,2007)

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Máu không được vỡ hồng cầu

## ĐỊNH LƯỢNG CHÌ NIỆU

### I. NGUYÊN LÝ

- Định lượng chì niệu bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng lò điện.
- Nguyên lý: Một lượng nhỏ mẫu được hóa hơi và nguyên tử hóa ở nhiệt độ cao trong ống graphit. Các nguyên tử chì (Pb) tự do sinh ra trong ống graphit hấp thụ tia sáng đơn sắc từ đèn catod (cathode) rồi tạo thành phổ hấp thụ nguyên tử và được xác định bởi bộ phận phát hiện (detector) nhân quang điện.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

#### 2. Phương tiện, hóa chất

##### 2.1. Máy móc

- Các loại máy quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng lò điện.
- Máy ly tâm

##### 2.2. Hoá chất

- Dung dịch chuẩn Pb 1g/L – Merck
- QC 2 mức: cho xét nghiệm chì niệu.
- Axit nitric đặc 65% Suprapure - Merck
- Triton X-100 - Sigma-Aldrich T9284
- Chất chống bọt Antifoam B - Sigma A6707
- Khí Argon có độ tinh khiết cao
- Nước khử ion

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy nước tiểu 24h, cách thức lấy nước tiểu 24h để làm xét nghiệm định lượng chì niệu.

#### 4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Nước tiểu 24h không cần chất bảo quản
- Lượng mẫu cần 60 µl mẫu nước tiểu cho mỗi phép đo (ít hơn cũng có thể định lượng bằng cách pha loãng mẫu)
- Lưu ý: dụng cụ chứa mẫu BP không được phép nhiễm Cu.

(Khuyến cáo: Các dụng cụ được rửa bằng acid có thể sử dụng chứa BP và yêu cầu này phải được tuân thủ).

## 2. Tiến hành kỹ thuật

### - Chuẩn bị hóa chất

- + **Axit HNO<sub>3</sub> 6,5%:** Pha chuẩn

Cho khoảng 60 mL nước khử ion vào bình định mức 100 mL, thêm 10 mL axit HNO<sub>3</sub> đặc 65% vào, thêm nước khử ion định mức tới vạch 100mL, đậy nắp và lắc kỹ.

- + **Dung dịch pha loãng mẫu** (0,1% Triton X-100; 0,1% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> trong nước deion)

- + **Dung dịch rửa** ( 0.01% HNO<sub>3</sub> và 0.002% Triton X-100)

- + **Chuẩn bị các dung dịch chuẩn làm việc**

### Xử lý mẫu

Chuẩn bị các ống Eppendorf 1,5 mL để xử lý mẫu

| Bước | Dung dịch                                        | Blank, chuẩn từ 1-5 | MẫuQC  | Mẫu bệnh phẩm |
|------|--------------------------------------------------|---------------------|--------|---------------|
| 1    | Pha loãng mẫu                                    | 450 µL              | 450 µL | 450 µL        |
| 2    | Blank hoặc chuẩn từ 1- 5                         | 50 µL               |        |               |
| 3    | QC 2 mức cho nước tiểu                           |                     | 50 µL  | 50 µL         |
| 4    | BP                                               |                     |        |               |
| 5    | Trộn kỹ bằng máy lắc va cho sang cup để chạy máy |                     |        |               |

Mẫu sau khi đã xử lý được đưa vào phân tích trên máy theo quy trình vận hành máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu: Chỉ trong nước tiểu:

- Bình thường: < 80 µg/24 h
- Giá trị báo động: > 125 µg/24 h

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Thu thập không đủ lượng nước tiểu 24h. Cần thu thập lại

## **ĐỊNH LƯỢNG CRP MÁU**

### **(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**

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**

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CRP, chất chuẩn CRP, chất kiểm tra chất lượng CRP.

#### **3. Người bệnh**

Người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **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 rẽ 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 CRP. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CRP. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm 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).
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- + Trị số bình thường: < 0.5 mg/dl.
- + CRP máu tăng trong: Thấp khớp dạng thấp, sốt thấp khớp, Nhồi máu cơ tim, Nhiễm khuẩn, Phế viêm do phế cầu...

## **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG 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  $\mu$ mol/L.
  - Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL hay 621  $\mu$ mol/L.
  - Huyết thanh đục: Triglyceride <1600 mg/dL (18.2 mmol/L).
  - Yếu tố dạng thấp < 1200 IU/mL.
- + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CRP tới 1000 mg/L. Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

# ĐỊNH LƯỢNG DHEAS MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-SO<sub>4</sub>, DHEAS) là một steroid của tuyến thượng thận, có vai trò quan trọng trong nghiên cứu về tình trạng mọc lông bất thường (chứng rậm lông) và hói đầu (chứng rụng tóc) ở nữ giới. Chất này cũng có giá trị trong việc đánh giá tình trạng tăng hoạt động vỏ thượng thận và dậy thì muộn. DHEA-SO<sub>4</sub> trong tuần hoàn gần như hoàn toàn bắt nguồn từ tuyến thượng thận, dù ở nam giới cũng có thể xuất phát từ tinh hoàn, góp phần vào sự khác biệt giới tính nổi bật rõ nét ở khoảng 15 tuổi. Mặt khác, hoóc-môn này không được sản xuất bởi buồng trứng trong các tình trạng bệnh lý. Bản thân DHEA-SO<sub>4</sub> chỉ có hoạt tính androgen yếu, nhưng có thể chuyển hóa thành các androgen mạnh hơn như androstenedione và testosterone và do đó là nguyên nhân gián tiếp gây rậm lông hay nam hóa. Nồng độ DHEA-SO<sub>4</sub> trong huyết tương tăng đều đặn từ khoảng bảy tuổi sau đó giảm dần sau ba mươi tuổi.

**Nguyên lý xét nghiệm:** miễn dịch enzym hóa phát quang cạnh tranh, pha rắn. Chu kỳ ủ: 1 × 30 phút

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động.

### 2. Phương tiện & hóa chất

#### 2.1. Phương tiện

- Máy phân tích: IMMULITE®/IMMULITE 1000, ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cồn sát trùng, găng tay, ...

#### 2.2. Hoá chất

##### *Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc*

Đơn vị xét nghiệm DHEA-SO<sub>4</sub> (LDS1)

Mỗi đơn vị được đánh dấu bằng mã vạch chứa một hạt được bọc bằng kháng thể đa dòng của thổ kháng DHEA-SO<sub>4</sub>. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

LKDS1:100 đơn vị

Đề các túi Đơn vị xét nghiệm đến nhiệt độ phòng trước khi mở. Mở bằng cách cắt dọc theo cạnh trên, để các khía khóa kéo nguyên vẹn. Gắn kín miệng túi để tránh ẩm.

Hộp thuốc thử DHEA-SO<sub>4</sub> (LDS2)

Có mã vạch. 7,5 mL photphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với DHEA-SO<sub>4</sub> trong chất nền protein người, có chất bảo quản. Bảo quản trong điều kiện đóng nắp và lạnh: ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Khuyến cáo sử dụng trong vòng 30 ngày sau khi mở khi được bảo quản đúng quy định.

LKDS1: 1 hộp hình nêm

Các chất điều chỉnh DHEA-SO<sub>4</sub> (LDSL, LDSH)

Hai lọ (nồng độ Thấp và nồng độ Cao) DHEA-SO<sub>4</sub> đông khô trong huyết thanh người, có chất bảo quản. Hoàn nguyên mỗi lọ với 2,0 mL nước cất hoặc nước khử ion. Để yên trong 30 phút. Trộn bằng cách lắc hoặc đảo đi đảo lại nhẹ nhàng cho đến khi chất đông khô hòa tan hoàn toàn. Chiết tách và đông lạnh. Ổn định ở -20°C trong 2 tháng sau khi hoàn nguyên.

LKDS1: 1 bộ

***Các thành phần của bộ dụng cụ được cung cấp riêng***

***Chất pha loãng mẫu DHEA-SO<sub>4</sub> (LDSZ)***

Đề pha loãng các mẫu của người bệnh theo cách thủ công. 25 mL huyết thanh người không có DHEA-SO<sub>4</sub> đã xử lý, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết tách) ở -20°C.

LSUBX: Cơ chất hóa phát quang

**Bảo quản và độ ổn định**

**Thuốc thử:** Bảo quản ở 2–8°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Lấy mẫu máu vào ống không có chất chống đông (nắp đỏ). Chờ quá trình đông máu diễn ra hoàn toàn mới tiến hành ly tâm tách huyết thanh

Mẫu máu đục do triglycerid tăng cao được khuyến nghị cần sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ các mẫu có tăng lipid huyết.

Mẫu 2 ngày ở 2–8°C trong ống thủy tinh hoặc polypropylene, hoặc 2 tháng ở -20°C.

### **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 DHEA-SO<sub>4</sub>. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm DHEA-SO<sub>4</sub>. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm DHEA-SO<sub>4</sub> 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.

Lưu ý rằng để có hiệu suất tối ưu, điều quan trọng là cần phải thực hiện tất cả các quy trình bảo dưỡng định kỳ theo quy định trong Sổ tay hướng dẫn vận hành hệ thống IMMULITE hoặc IMMULITE 1000. Xem Sổ tay hướng dẫn vận hành hệ thống IMMULITE hoặc IMMULITE 1000 để biết về các quy trình chuẩn bị, thiết lập, pha loãng, điều chỉnh, xét nghiệm và kiểm soát chất lượng.

Kiểm tra bằng mắt từng Đơn vị xét nghiệm để xem có hạt hay không trước khi tải vào hệ thống. Khoảng điều chỉnh được khuyến nghị: 4 tuần

**Các mẫu kiểm soát chất lượng:** Tuân theo các quy định hoặc yêu cầu về cấp phép của chính phủ về tần suất kiểm soát chất lượng.

Sử dụng các chất kiểm chuẩn hoặc nhóm mẫu với ít nhất là hai mức (thấp và cao) DHEA-SO<sub>4</sub>. Siemens Healthcare Diagnostics khuyến nghị sử dụng chất kiểm chuẩn có bán trên thị trường với ít nhất 2 mức (thấp và cao). Có thể đạt được mức độ hiệu suất thỏa đáng khi các giá trị cần phân tích thu được nằm trong Phạm vi kiểm chuẩn chấp nhận được đối với hệ thống, hoặc trong một phạm vi đã thiết lập được xác định theo chương trình kiểm soát chất lượng phòng thí nghiệm nội bộ thích hợp.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

|            | <i>n</i> | Giá trị trung vị | Phạm vi<br>(Phạm vi trung tâm 95%) |
|------------|----------|------------------|------------------------------------|
| <b>Nữ</b>  | 132      | 170 µg/dL        | 35–430 µg/dL                       |
| <b>Nam</b> | 70       | 280 µg/dL        | 80–560 µg/dL                       |

Các giới hạn này là tham khảo. Mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập phạm vi tham chiếu của riêng mình.

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Mẫu bị tan huyết có thể ảnh hưởng đến kết quả
- Ly tâm tách huyết thanh sớm (khi cục máu đông hình thành hoàn toàn) có thể dẫn đến sự xuất hiện tơ huyết. Để ngăn ngừa trường hợp kết quả sai do sự xuất hiện tơ huyết, cần tiến hành ly tâm khi mẫu máu hình thành cục máu đông hoàn

toàn. Một số mẫu từ người bệnh được điều trị bằng thuốc chống đông máu, có thể cần phải tăng thời gian đông máu.

- Ống thu thập máu của các nhà sản xuất khác nhau có thể cho ra những giá trị khác nhau, tùy thuộc vào vật liệu và phụ gia, bao gồm gel hoặc các rào cản vật lý, chất hoạt hóa đông máu và/hoặc thuốc chống đông máu. IMMULITE/IMMULITE 1000 DHEA-SO<sub>4</sub> chưa được xét nghiệm với tất cả các loại ống khác nhau có thể xảy ra.

- Các mẫu của các người bệnh tiếp xúc thường xuyên với động vật hoặc các sản phẩm huyết thanh động vật có thể có biểu

hiện nhiều này có khả năng gây ra kết quả bất thường. Những thuốc thử này đã được tạo ra để giảm thiểu nguy cơ bị nhiễu; tuy nhiên, có thể xảy ra các tương tác có khả năng xảy ra giữa huyết thanh hiếm gặp và các thành phần xét nghiệm. Đối với các mục đích chẩn đoán, các kết quả có được từ xét nghiệm này cần được sử dụng kết hợp với thăm khám lâm sàng, bệnh sử của người bệnh và các phát hiện khác.

Theo y văn, giới hạn trên của phạm vi bình thường ở người trưởng thành trẻ tuổi là khoảng 300 µg/dL đối với nữ giới và 500 µg/dL đối với nam giới. Mang thai và uống thuốc tránh thai làm giảm nồng độ này ở mức vừa phải. DHEA-SO<sub>4</sub> được tiết vào dòng máu ở tốc độ chỉ cao hơn một chút so với DHEA, nhưng do có tốc độ chuyển hóa chậm hơn nhiều DHEA-SO<sub>4</sub> có thời gian bán thải là gần một ngày duy trì nồng độ trong huyết tương cao hơn gần một nghìn lần. Khác với cortisol, DHEA-SO<sub>4</sub> không biểu hiện mức biến thiên trong ngày đáng kể. Khác với testosterone, chất này không tuần hoàn ở dạng gắn với globulin gắn kết hoóc-môn sinh dục và do đó không bị ảnh hưởng bởi những thay đổi trong nồng độ của protein vận chuyển này. Sự dồi dào, cùng với tính ổn định trong ngày và từ ngày này qua ngày khác khiến DHEA-SO<sub>4</sub> là một chỉ báo trực tiếp tuyệt vời về sản lượng androgen của tuyến thượng thận ưu việt, chắc chắn, đối với phép đo 17-ketosteroid niệu trong bối cảnh này.

Theo đó, DHEA-SO<sub>4</sub> thường được xét nghiệm kết hợp với testosterone tự do như một phương pháp sàng lọc ban đầu về tình trạng tăng tiết androgen trong chứng rậm lông. Ít nhất một trong hai hoóc-môn này có khả năng tăng cao trong đa số các trường hợp theo báo cáo là trên 80 phần trăm số trường hợp. Đôi khi DHEA-SO<sub>4</sub> là hoóc-môn duy nhất tuần hoàn ở nồng độ trên mức bình thường và có vẻ có nhiều khả năng tăng cao hơn trong các giai đoạn đầu của chứng rậm lông so với hầu hết các androgen khác. Nồng độ DHEA-SO<sub>4</sub> cao thường gặp trong hội chứng buồng trứng đa nang, cho thấy rằng tăng tiết androgen tuyến thượng thận là một mặt khá điển hình của hội chứng này. Nồng độ trong huyết tương tăng cao kéo dài trong hai tuần hoặc khoảng hai tuần có thể ức chế bằng dexamethasone cũng có thể là kết quả của tình trạng tăng sản tuyến thượng thận. Nồng độ cực kỳ cao (lớn hơn 700 hoặc 800 µg/dL) ở nữ giới gợi ý về khối u

tuyến thượng thận tiết hoóc-môn (Ngược lại, nồng độ DHEA-SO<sub>4</sub> thường bình thường khi có các khối u buồng trứng.

## ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG NIỆU

### I. NGUYÊN LÝ

- Định lượng đồng niêu theo phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng lò điện.
- Nguyên lý: Một lượng nhỏ mẫu được hóa hơi và nguyên tử hóa ở nhiệt độ cao trong ống graphit. Các nguyên tử đồng tự do sinh ra trong ống graphit hấp thụ tia sáng đơn sắc từ đèn catod (cathode) rồi tạo thành phổ hấp thụ nguyên tử và được xác định bởi bộ phận phát hiện (detector) nhân quang điện.

### II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

**2.1. Phương tiện**

- Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng lò điện
- Máy ly tâm

**2.2. Hoá chất**

- Dung dịch chuẩn Cu 1g/L – Merck
- QC 2 mức
- Axit nitric đặc 65% Suprapure - Merck
- Triton X-100 - Sigma-Aldrich T9284
- Chất chống bọt Antifoam B - Sigma A6707
- Khí Argon có độ tinh khiết cao
- Nước khử ion

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy nước tiểu 24h, cách thức lấy nước tiểu 24h để làm xét nghiệm định lượng Cu niêu.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

**1. Lấy bệnh phẩm**

- Nước tiểu 24h không cần chất bảo quản
- Lượng mẫu cần 600 µl mẫu nước tiểu cho mỗi phép đo (ít hơn cũng có thể định lượng bằng cách pha loãng mẫu)
- Lưu ý: dụng cụ chứa mẫu BP không được phép nhiễm Cu.

(Khuyến cáo: Các dụng cụ được rửa bằng acid có thể sử dụng chứa BP và yêu cầu này phải được tuân thủ).

## 2. Tiến hành kỹ thuật

### - Chuẩn bị hóa chất

+ Axit **HNO<sub>3</sub> 6,5%**: Pha chuẩn

Cho khoảng 60 mL nước khử ion vào bình định mức 100 mL, thêm 10 mL axit HNO<sub>3</sub> đặc 65% vào, thêm nước khử ion định mức tới vạch 100mL, đậy nắp và lắc kỹ.

+ Dung dịch pha loãng mẫu nước tiểu

( 0,5% HNO<sub>3</sub>; 2% Triton X-100; 0,1% Antifoam B trong nước khử ion)

Ủ lọ Triton X-100 trong buồng ủ 37 °C trước khi dùng (để giảm độ nhớt khi lấy bằng pipet).

+ Dung dịch rửa ( 0.01% HNO<sub>3</sub> và 0.002% Triton X-100)

+ Chuẩn bị các dung dịch chuẩn làm việc

Xử lý mẫu

| Dung dịch                         | Ống Blank | Ống Chuẩn | Ống QC | Ống BP |
|-----------------------------------|-----------|-----------|--------|--------|
| Dung dịch pha loãng mẫu nước tiểu | 300 µL    | 300 µL    | 300 µL | 300 µL |
| Nước khử ion                      | 300 µL    |           |        |        |
| Dung dịch chuẩn                   |           | 300 µL    |        |        |
| Dung dịch QC                      |           |           | 300 µL |        |
| Bệnh phẩm                         |           |           |        | 300 µL |

Mẫu sau khi xử lý đưa vào phân tích trên máy theo quy trình vận hành máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị bình thường:

|                      | µmol/24h   | µg/24h             |
|----------------------|------------|--------------------|
| Người lớn            | 0.16- 0.95 | 10- 60             |
| Bệnh Wilson          | > 1.57     | > 100 (0.1 mg/24h) |
| Nước tiểu ngẫu nhiên |            | 2- 80 µg/L         |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Thu thập không đủ lượng nước tiểu 24h. Cần thu thập lại.

## **ĐỊNH LƯỢNG ESCSTASY (AMPHETAMIN) NIÊU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Các amphetamine được gọi là các amin cường giao cảm vì chúng bắt chước tác động kích thích hệ thần kinh giao cảm. Những phân tử nhỏ này, dựa trên  $\beta$ -phenylethylamine, có cấu trúc tương tự như catecholamine của cơ thể. Nhiều loại đã được tạo ra bằng cách thay thế bất cứ vị trí nào trên cấu trúc. Các amphetamine là chất kích thích thần kinh trung ương mạnh. Như vậy chúng có thể làm tăng sự tỉnh táo, hoạt động thể chất, và giảm sự thèm ăn. Các amphetamine có một số chỉ định

giới hạn và được phê duyệt để sử dụng trong chứng ngủ rũ, và béo phì... Tuy nhiên, vì các chất kích thích thần kinh trung ương này mang lại cảm giác tự tin, hạnh phúc, và sảng khoái, nên chúng rất gây nghiện, bị lạm dụng rộng rãi, và do đó là các chất bị kiểm soát. Lạm dụng có thể dẫn đến các hậu quả về y tế, tâm lý và xã hội. Tác hại cho sức khỏe bao gồm mất trí nhớ, hung hăng, hành vi loạn thần kinh, tổn thương tim, suy dinh dưỡng, và các vấn đề răng miệng nghiêm trọng. Amphetamin có thể là một chất chuyển hóa của một số loại thuốc khác bao gồm methamphetamine. Thông thường khoảng 30 % được bài tiết dạng không đổi trong nước tiểu 24 giờ, nhưng có thể thay đổi tới con số 74 % trong nước tiểu acid và có thể giảm đến 1 % trong nước tiểu kiềm.

Xét nghiệm dựa trên sự tương tác động học các vi hạt trong dung dịch được đo bởi những thay đổi trong dẫn truyền ánh sáng. Trong trường hợp không có thuốc mẫu, thuốc liên hợp hòa tan gắn với vi hạt liên kết với kháng thể, tạo thành các vi hạt kết tập. Khi phản ứng kết tập thực hiện trong trường hợp không có thuốc mẫu, độ hấp thu tăng lên.

Khi mẫu nước tiểu chứa thuốc đang nghi ngờ, thuốc này cạnh tranh với dẫn xuất thuốc liên hợp với vi hạt liên kết với kháng thể. Kháng thể gắn với thuốc trong mẫu thử không còn khả năng thúc đẩy hình thành hạt ngưng kết, và sau đó ức chế sự hình thành lưới hạt. Sự có mặt của thuốc trong mẫu thử làm giảm sự gia tăng độ hấp thu tỷ lệ với nồng độ thuốc trong mẫu thử. Hàm lượng thuốc trong mẫu thử được xác định tương ứng với giá trị thu được cho ngưỡng nồng độ đã biết trước của thuốc.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

#### **Phương tiện**

- Máy có thể phân tích: COBAS C, AU...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyển mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

#### **Hóa chất**

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử định lượng Amphetamin: Khi chưa mở nắp. thuốc thử ổn định ở 2- 8 °C cho đến hết hạn sử dụng ghi trên hộp. Thuốc thử đã mở nắp và để lạnh trên máy ổn định trong 8tuần.

- Chất chuẩn
- Chất kiểm tra chất lượng.

### **3. Người bệnh:**

Người bệnh và người nhà người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy nước tiểu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm:**

Nước tiểu: Lấy mẫu nước tiểu trong dụng cụ chứa bằng thủy tinh hoặc plastic. Mẫu nước tiểu mới không yêu cầu bất kỳ xử lý hay tiền xử lý đặc biệt nào, nhưng phải hút mẫu cẩn thận để tránh cạn. pH mẫu phải nằm trong khoảng từ 5-8. Không cần sử dụng chất bảo quản.

Có thể bảo quản mẫu nước tiểu ở 2-8 °C trong vòng 5 ngày sau khi lấy mẫu. Ly tâm mẫu có độ đục cao trước khi xét nghiệm.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật:**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Amphetamin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Amphetamin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Amphetamin đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm 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**

Với xét nghiệm định tính, ngưỡng mẫu chuẩn được sử dụng để tham chiếu trong phân biệt giữa mẫu dương tính sơ bộ và mẫu âm tính. Mẫu cho giá trị độ hấp thu dương hay bằng “0” được xem là dương tính sơ bộ. Mẫu dương tính sơ bộ được báo cờ hiệu là >Test. Mẫu cho giá trị độ hấp thu âm được xem là âm tính. Mẫu âm tính được ghi dấu trừ ở phía trước. Kết quả của xét nghiệm này chỉ phân biệt các mẫu dương tính sơ bộ ( $\geq 300$  ng/mL,  $\geq 500$  ng/mL hoặc  $\geq 1000$  ng/mL phụ thuộc vào ngưỡng mẫu chuẩn) so với mẫu âm tính. Không thể ước lượng lượng thuốc được phát hiện trong một mẫu dương tính sơ bộ.

Xét nghiệm bán định lượng của các kết quả dương tính sơ bộ chỉ nên được sử dụng bởi phòng xét nghiệm nhằm xác định độ pha loãng thích hợp của mẫu để khẳng định bằng một phương pháp khẳng định như sắc ký khí/khối phổ (GC/MS).



Nó cũng cho phép phòng xét nghiệm thiết lập quy trình kiểm tra chất lượng và đánh giá hiệu năng kiểm chứng. Đối với xét nghiệm bán định lượng, máy phân tích sẽ vẽ một đường cong chuẩn từ các kết quả đo độ hấp thu của các mẫu chuẩn bằng hàm điều chỉnh 4 thông số logit-log (RCM). Hàm logit-log sẽ vẽ một đường thẳng qua các điểm dữ liệu. Máy phân tích sử dụng các giá trị độ hấp thu của mẫu thử để tính nồng độ thuốc hoặc chất chuyển hóa của thuốc bằng cách nội suy từ hàm điều chỉnh logit-log. Kết quả của xét nghiệm này chỉ cho nồng độ tích lũy gần đúng của thuốc và các chất chuyển hóa của nó.

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Xem lại dữ liệu Reaction Monitor của mẫu thử và so sánh với dữ liệu Reaction Monitor của mẫu chuẩn cao nhất. Nguyên nhân thường gặp là do nồng độ chất phân tích trong mẫu thử cao, trong trường hợp này giá trị độ hấp thu của mẫu thử sẽ nhỏ hơn giá trị của mẫu chuẩn cao nhất. Pha loãng mẫu thích hợp sử dụng mẫu chuẩn 0 ng/mL và chạy mẫu lại. Có thể thay thế mẫu chuẩn 0 ng/mL bằng nước tiểu bình thường không chứa thuốc nếu nước tiểu và quy trình đã được thẩm định bởi phòng xét nghiệm.

Để đảm bảo mẫu thử không bị pha loãng quá mức, kết quả pha loãng, trước khi nhân với hệ số pha loãng, ít nhất phải bằng 1/2 giá trị ngưỡng của chất phân tích. Nếu kết quả nằm dưới 1/2 giá trị ngưỡng của chất phân tích, xét nghiệm lại mẫu thử với độ pha loãng nhỏ hơn. Độ pha loãng cho kết quả gần nhất với ngưỡng chất phân tích là giá trị ước lượng chính xác nhất.

Để ước lượng nồng độ của các mẫu dương tính sơ bộ, nhân kết quả với hệ số pha loãng thích hợp. Chỉ nên pha loãng để biện luận kết quả báo hiệu Calc.? hoặc Samp.?, hoặc khi cần ước lượng nồng độ các mẫu đo bằng phương pháp GC/MS.

Hãy thận trọng khi báo cáo kết quả vì có những yếu tố khác nhau ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm nước tiểu. Như với bất kỳ xét nghiệm nhạy đối với lạm dụng thuốc trên các máy phân tích hóa sinh lâm sàng tự động, có khả năng chất phân tích từ mẫu thử có nồng độ rất cao nhiễm vào mẫu bình thường (âm tính) và được xét nghiệm ngay sau đó. Khẳng định tất cả kết quả dương tính sơ bộ bằng một phương pháp khác.

Khi chạy xét nghiệm Amphetamines và HbA1c II, trên cùng máy phân tích, tránh tiến hành xét nghiệm đầu tiên là Amphetamines sau chế độ chờ. Nếu không có xét nghiệm nào khác đang chờ, nên tiến hành một xét nghiệm mẫu giả để tránh Amphetamines trở thành xét nghiệm đầu tiên sau chế độ chờ. Ra lệnh xét nghiệm giả cho bất kỳ xét nghiệm nào có R1 ngoài HbA1c II.

# **ĐỊNH LƯỢNG ELF ( ENHANCED LIVER FIBROSIS) MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Enhanced Liver Fibrosis (ELF) test là một xét nghiệm chỉ số định lượng chẩn đoán *in vitro* được dùng để cung cấp một điểm ELF duy nhất bằng cách kết hợp thuật toán với phép đo định lượng axit hialuronic (HA), amino-terminal propeptide của procollagen loại III (PIIINP) và yếu tố ức chế mô của metalloproteinase 1 (TIMP-1) trong huyết thanh người bằng cách sử dụng Atellica™ IM/Centaur Analyzer. Xét nghiệm ELF Test, cùng với các phát hiện trong phòng xét nghiệm và đánh giá lâm sàng khác, được coi là công cụ hỗ trợ chẩn đoán và đánh giá mức độ nghiêm trọng của bệnh xơ gan ở những người bệnh có các dấu hiệu và triệu chứng mắc bệnh gan mạn tính.

ELF Test định lượng các chất phân tích là dấu hiệu trực tiếp của bệnh xơ gan. PIIINP là dấu hiệu của tình trạng xơ hóa và viêm nhiễm sớm, TIMP-1 là chất ức chế tuần hoàn các enzyme MMP có thể cải thiện tình trạng xơ hóa và HA là glycosaminoglycan do các tế bào gan hình sao sản sinh ra. Các xét nghiệm này cùng đánh giá những thay đổi về định lượng và định tính ở chất nền ngoại bào (ECM). ECM là nhóm các đại phân tử hình thành nên khuôn nền ngoại bào của gan. Một số dấu hiệu ECM phản ánh tình trạng xơ hóa trong khi những dấu hiệu khác phản ánh sự thoái trào của bệnh xơ hóa, cho phép đánh giá động về hoạt tính của ECM.

Điểm ELF, suy ra từ một thuật toán kết hợp các kết quả riêng lẻ của HA, PIIINP và TIMP-1, có thể dùng để đánh giá tình trạng xơ gan ở những người bệnh đã được chẩn đoán mắc bệnh gan mạn tính. Điểm ELF có thể được dùng làm cơ sở để xác định bệnh xơ gan; để theo dõi các thay đổi về tình trạng xơ hóa theo thời gian (bệnh sử tự nhiên); trước, trong và sau khi trị liệu hoặc thay đổi lối sống; và hỗ trợ xác định tiên lượng.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

### **2. Phương tiện hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy có thể phân tích: Atellica IM; Centaur; ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cồn sát trùng, găng tay, ...

#### **2.2. Hoá chất**

Điểm ELF Test được xác định dựa trên kết quả xét nghiệm HA, PIIINP và TIMP-1 bằng cách sử dụng một thuật toán nên cần làm các xét nghiệm thành phần trước khi tiến hành xét nghiệm ELF.

### **Hóa chất cần thiết nhưng không được cung cấp**

- Atellica IM/Centaur HA
- Atellica IM/Centaur PIIINP
- Atellica IM/ Centaur TIMP-1

Hóa chất cụ thể của từng xét nghiệm thành phần tham khảo thêm ở hướng dẫn sử dụng của từng xét nghiệm thành phần.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Huyết thanh là loại mẫu được khuyến nghị cho các xét nghiệm này.

Lấy mẫu bệnh phẩm theo quy trình quy định. Để mẫu máu đông hoàn toàn trước khi ly tâm

Chuẩn bị mẫu:

Xét nghiệm này cần có 65  $\mu$ L mẫu để thực hiện một lần xét nghiệm bằng cách sử dụng toàn bộ ba xét nghiệm thành phần. Thể tích này không bao gồm thể tích không sử dụng chứa trong hộp đựng mẫu hoặc thể tích bổ sung theo quy định khi thực hiện lặp lại hoặc thực hiện các xét nghiệm khác trên cùng một mẫu.

**Lưu ý** Không sử dụng các mẫu bị nhiễm bẩn rõ ràng.

Trước khi đặt mẫu lên hệ thống, đảm bảo rằng mẫu không có:

- Bong bóng hoặc bọt.
- Tơ huyết hoặc hạt vật chất khác.

### **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 ELF. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm ELF. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm ELF 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.
- Đảm bảo nạp và bật xét nghiệm thành phần trước khi lên lịch Xét nghiệm ELF.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đọc máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Điểm Atellica IM ELF Test được xác định dựa trên kết quả xét nghiệm HA, PIIINP và TIMP-1 bằng cách sử dụng một thuật toán
- 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

##### 1. Giá trị tham chiếu

Hệ thống tính điểm ELF bằng cách sử dụng kết quả xét nghiệm thành phần. Hệ thống báo cáo điểm ELF dưới dạng giá trị số không đơn vị.

| Điểm ELF           | Mức độ nghiêm trọng của bệnh xơ gan |
|--------------------|-------------------------------------|
| < 7                | không có bệnh cho đến bệnh nhẹ      |
| $\geq 7,7 - < 9,8$ | Trung bình                          |
| $\geq 9,8$         | Nghiêm trọng                        |

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Tất cả các xét nghiệm thành phần dùng để xác định điểm ELF (HA, PIIINP và TIMP-1) phải cùng cho ra kết quả trong vòng 8 giờ để điểm ELF hợp lệ.
- Các mẫu bị huyết tán đã cho thấy nồng độ PIIINP giảm rõ rệt ở các mẫu sử dụng xét nghiệm PIIINP.
- Nhận định kết quả cần kết hợp với bệnh sử, triệu chứng lâm sàng và các phát hiện khác từ người bệnh.

# **ĐỊNH LƯỢNG EPO (ERYTHROPOIETIN) MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Erythropoietin (EPO) là một glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 30 400 Dalton, được sản xuất chủ yếu bởi thận, là yếu tố chính điều hòa quá trình sản xuất tế bào hồng cầu ở động vật có vú. Việc sản xuất EPO của thận được điều hòa bởi sự thay đổi lượng oxy trong máu. Trong tình trạng thiếu hụt oxy ở mô, nồng độ EPO tuần hoàn sẽ tăng, dẫn đến việc tăng sản xuất các tế bào hồng cầu.

EPO được định lượng theo nguyên lý miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang (CLIA-Chemiluminescence Immunoassay).

Mẫu bệnh phẩm có EPO được thêm vào thuốc thử có các hạt từ gắn kháng thể chuột đơn dòng kháng EPO. Sau khi ủ trong bình phản ứng, EPO liên kết với pha rắn là các hạt từ trong thuốc thử. Sau đó, thuốc thử không liên kết được rửa sạch. Tiếp theo, hợp chất hóa phát quang Lumi-Phos\* 530 được bổ sung vào và ánh sáng được tạo ra do các phản ứng được đo bằng một quang tử. Cường độ ánh sáng tỷ lệ thuận với nồng độ của EPO trong mẫu thử.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

- Máy móc: máy miễn dịch Unicel® DxI 800 và một số máy miễn dịch khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng EPO, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng EPO.

### **3. Người bệnh:**

Cần giải thích cho người, người nhà người bệnh bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm:**

Do nồng độ của erythropoietin dao động trong ngày. Do đó, khuyến cáo cần lấy mẫu bệnh phẩm ở thời điểm thích hợp trong ngày. Thời điểm lấy mẫu nên trong khoảng 7h30 – 12h.

Mẫu bệnh phẩm cần luôn luôn được đầy nắp.

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin để định lượng EPO. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông heparin. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút để tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

Bệnh phẩm ổn định trong ống có nút đầy chặt ở nhiệt độ phòng (15-30°C) không quá 8 giờ.

Nếu xét nghiệm không thực hiện trong vòng 8 giờ, mẫu cần bảo quản ở nhiệt độ từ 2-8°C. Mẫu ổn định trong 48 giờ.

Nếu xét nghiệm không thực hiện trong vòng 48 giờ, mẫu cần bảo quản ở nhiệt độ -20°C hoặc lạnh hơn. Không rã đông quá 3 lần.

***Không lưu trữ mẫu trong các ống thủy tinh.***

## **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 EPO. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm EPO. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm EPO 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).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ Giá trị tham chiếu: 2,59-18,5 mIU/mL

Nồng độ EPO tăng trong: thiếu máu tán huyết, đa hồng cầu thứ phát, hội chứng loạn sinh tủy, có thai...

Nồng độ EPO có thể tăng trong các tình trạng thiếu hụt lượng oxy trong mô như người sống ở vùng cao, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh tim bẩm sinh (dẫn đến lượng oxy trong máu thấp), hội chứng ngừng thở khi ngủ, hội chứng rối loạn hemoglobin ái lực cao với oxygen, hút thuốc hoặc tình trạng thiếu hụt oxy cục bộ trong thận.

Ngoài ra, mức EPO tăng cao là do sự sản xuất của các tế bào ung thư. Các trường hợp tăng sản xuất EPO và đa hồng cầu xuất hiện ở những người bệnh ung thư biểu mô thận, bệnh thận đa nang, u Wilm, ung thư gan, u nguyên bào mạch máu tiểu não (Cerebellar Hemangioblastomas), u tuyến thượng thận, và u cơ trơn

lành tính (leiomyomas).

- Nồng độ EPO giảm trong: bệnh thận giai đoạn cuối, đa hồng cầu nguyên phát, hội chứng AIDS, thiếu máu ở bệnh mạn tính...

### **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

Xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi một số chất ở những nồng độ sau:

Các mẫu huyết tán đến 500 mg/dL hemoglobin, huyết thanh vàng chứa đến 40 mg/dL bilirubin (684  $\mu$ mol/L), huyết thanh đục chứa đến 3000mg/dL triglycerides (33,9 mmol/L), 8000 units/dL heparin, 20mg/dL acetaminophen, 50 mg /dL acetylsalicylic acid, 40mg/dL ibuprofen.

# **ĐỊNH LƯỢNG EVEROLIMUS MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Everolimus là một dẫn xuất của sirolimus được tổng hợp bởi sự khử nhóm 2-hydroxyethyl ở nguyên tử carbon ở vị trí 40 của sirolimus. Thuốc này có nhiều ứng dụng lâm sàng, điển hình nhất là trong ghép tạng, ung thư và tim mạch. Đã có chứng minh việc thay thế sớm các chất ức chế calcineurin như cyclosporin với một phác đồ sử dụng everolimus có thể cải thiện kết quả lâu dài ở người bệnh ghép thận.

Khoảng 75% everolimus trong tuần hoàn gắn với tế bào hồng cầu và gần 75% của phần còn lại gắn với protein huyết tương. Thời gian bán thải ở người bệnh ghép thận là 18-35 giờ, ở người bệnh ghép gan thời gian bán thải kéo dài hơn một chút vào khoảng 35- 40 giờ.

Nồng độ everolimus trong máu ở người bệnh ghép tạng đặc có mối liên quan với hiệu quả điều trị và tần xuất của tác dụng phụ. Do khoảng trị liệu của thuốc hẹp, tương tác dược động học của thuốc đáng kể và sự khác nhau nhiều giữa từng người bệnh, nên việc theo dõi nồng độ trong trị liệu của everolimus trong máu toàn phần được khuyến cáo ở tất cả các người bệnh ghép tạng đặc, giúp cải thiện hiệu quả điều trị.

Everolimus được định lượng bằng phương pháp miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ điện hóa phát quang. Trước khi thực hiện định lượng tự động trên máy, cần tiến hành bước tiền xử lý mẫu bằng tay,

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp.

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

- Máy móc: Cobas e601, e602, e170 và một số máy miễn dịch khác...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cồn, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng Everolimus, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng Everolimus.

### **3. Người bệnh:**

Người bệnh, người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.



- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm:

Xét nghiệm này sử dụng máu toàn phần. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống có chất chống đông K2 hoặc K3-EDTA.

Mẫu máu toàn phần có thể bảo quản đến 5 ngày ở 15- 25°C hoặc 7 ngày ở 2-8°C. Nếu xét nghiệm muộn hơn 7 ngày sau, cần bảo quản mẫu đông lạnh ở - 20°C hoặc thấp hơn có thể được đến 6 tháng.

Chỉ đông lạnh một lần. Mẫu thử phải được trộn đều sau khi rã đông để đảm bảo sự nhất quán của kết quả.

Trộn mẫu đã rã đông kỹ bằng tay hoặc trên một máy trộn lẫn hay máy lắc. Kiểm tra mẫu bằng mắt. Nếu quan sát thấy bị tách lớp hoặc phân tầng, tiếp tục trộn cho đến khi mẫu đồng nhất rõ ràng.

Đảm bảo nhiệt độ của các mẫu bệnh phẩm, mẫu chuẩn và mẫu chứng ở 20-25°C trước khi tiến xử lý.

Mẫu có nồng độ everolimus trên khoảng đo (>30ng/mL) có thể được pha loãng thủ công theo tỷ lệ 1:2 với Diluent Universal hoặc Diluent Universal 2 trước khi tiến hành tiến xử lý mẫu thủ công. Nồng độ mẫu sau pha loãng phải > 12 ng/mL.

Sau khi pha loãng thủ công, nhân kết quả với hệ số pha loãng.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật:

Xét nghiệm Everolimus yêu cầu có bước tiến xử lý mẫu bằng tay cụ thể như sau:

| Bước                                                                                                                                                                            | Ghi chú kỹ thuật                                                                                                                                                                                                            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Cân bằng tất cả thuốc thử, mẫu chuẩn, mẫu chứng và mẫu thử về 20- 25°C. Trộn tất cả mẫu chuẩn, mẫu chứng và mẫu thử một cách nhẹ nhàng nhưng kỹ càng ngay trước khi sử dụng. | Không trộn xoáy. Các chất lỏng có thể trộn thủ công hoặc trên máy trộn trục lẫn hoặc máy lắc.<br>Các mẫu chuẩn và mẫu chứng là mẫu ly huyết của máu toàn phần và có thể hơi khác biệt về vẻ ngoài so với mẫu máu toàn phần. |
| 2. Dán nhãn một ống vi ly tâm cho mỗi mẫu chuẩn, mẫu chứng và/hoặc mẫu thử sẽ được tiến xử lý.                                                                                  | Không                                                                                                                                                                                                                       |
| 3. Sử dụng một pipette chính xác, chuyển 300 µL mỗi mẫu chuẩn, mẫu chứng và/hoặc mẫu thử vào ống vi ly tâm đã dán nhãn thích hợp                                                | Sử dụng đầu pipette mới cho mỗi mẫu chuẩn, mẫu chứng và/hoặc mẫu thử.                                                                                                                                                       |

|                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4. Sử dụng một pipette chính xác, thêm 300 µL thuốc thử ISD Sample Pretreatment vào mỗi ống vi ly tâm. Lập tức đậy nắp mỗi ống và lập tức thực hiện bước 5             | Lưu ý: ISD Sample Pretreatment rất dễ bay hơi. Đóng chặt nắp khi không sử dụng để tránh bay hơi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 5. Trộn xoáy từng ống vi ly tâm trong ít nhất 10 giây. Không thực hiện được bước này có thể dẫn đến dung dịch phía trên xuất hiện màu đỏ. Xem bước 6, ghi chú kỹ thuật | Lưu ý: Không trộn xoáy từng ống ngay sau khi thêm thuốc thử ISD Sample Pretreatment sẽ dẫn đến kết quả xét nghiệm sai.<br>Hỗn hợp mẫu và thuốc thử phải hoàn toàn đồng nhất ngay sau khi trộn xoáy. Cần kiểm tra bằng mắt thường                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 6. Ly tâm các mẫu trong ít nhất 4 phút trong máy vi ly tâm ( $\geq 10000$ g).                                                                                          | Các mẫu đã ly tâm phải có các hạt hình dạng rõ ràng và dung dịch phía trên trong suốt. Dung dịch phía trên không được mờ đục hoặc đỏ. Nếu dung dịch phía trên có màu đỏ, loại bỏ và thay thế bằng một mẫu mới tách chiết                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 7. Chuyển từng phần dung dịch phía trên trực tiếp vào lọ thích hợp và lập tức đóng nắp từng lọ.<br>Các mẫu đã sẵn sàng để xét nghiệm.                                  | Mẫu tiền xử lý có thể bảo quản trong ống đậy kín đến 4 giờ ở nhiệt độ phòng<br>Do các hiệu ứng bay hơi, các mẫu tiền xử lý phải được phân tích trong vòng 30 phút sau khi mở lọ và nạp mẫu lên hệ thống. Tránh trì hoãn thời gian giữa việc nạp mẫu và đo mẫu để đảm bảo độ ổn định 30 phút của mẫu tiền xử lý.<br>Điều này được đảm bảo bằng cách chạy các mẫu everolimus theo từng đợt: Dựa trên thời gian xử lý mẫu trung bình của hệ thống, có thể nạp không quá 35 mẫu everolimus đồng thời lên máy phân tích cho mỗi buồng đo đã chuẩn. |

- Để phân tích mẫu đã tiền xử lý thì trước đó máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Everolimus. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Everolimus. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Everolimus 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).

- Thực hiện xét nghiệm 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

Không có khoảng nồng độ trị liệu nhất định nào đối với everolimus trong máu toàn phần. Tính phức tạp của tình trạng lâm sàng, sự khác biệt cá thể về nhạy cảm đối với tác dụng ức chế miễn dịch và tính độc với thận của everolimus, sử dụng đồng thời các chất ức chế miễn dịch khác, dạng cấy ghép, thời gian sau cấy ghép, và nhiều yếu tố khác góp phần tạo ra nồng độ tối ưu khác nhau của everolimus trong máu. Các giá trị everolimus riêng lẻ không thể được sử dụng làm chỉ thị duy nhất để tiến hành thay đổi chế độ điều trị. Mỗi người bệnh cần được đánh giá lâm sàng một cách kỹ lưỡng trước khi tiến hành điều chỉnh chế độ trị liệu, và người sử dụng xét nghiệm phải thiết lập khoảng giá trị của người bệnh dựa trên kinh nghiệm lâm sàng.

Các khoảng này sẽ thay đổi theo xét nghiệm chẩn đoán in vitro được sử dụng và phải được thiết lập cho từng xét nghiệm.

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Xét nghiệm không bị nhiễu khi hiện diện những chất có nồng độ như sau trong mẫu:

| Hợp chất                         | Nồng độ thử nghiệm            |
|----------------------------------|-------------------------------|
| Albumin                          | $\leq 70$ g/L                 |
| Bilirubin                        | $\leq 1129$ $\mu\text{mol/L}$ |
| Biotin                           | $\leq 287$ nmol/L             |
|                                  | $\leq 70.0$ ng/mL             |
| Cholesterol                      | $\leq 12.95$ mmol/L           |
| HARA (kháng thể người kháng thể) | $\leq 10.0$ $\mu\text{g/mL}$  |
| Hematocrit                       | 15-60 %                       |
| Triglycerid                      | $\leq 22.6$ mmol/L            |
| Các yếu tố thấp khớp tối đa đến  | 1200 IU/mL                    |
| Uric acid                        | 1785 $\mu\text{mol/L}$        |

# **ĐỊNH LƯỢNG GADA MÁU**

## **(*Glutamic acid decarboxylase autoantibodies*)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

GADA- Glutamic acid decarboxylase autoantibodies-kháng thể kháng GAD

GADA được định lượng bằng kỹ thuật ELISA.

Huyết thanh người bệnh được ủ với GAD gắn trên các vi giếng. Nếu trong mẫu có GADA, kháng thể đặc hiệu sẽ gắn GAD. Kháng thể này có thể gắn với GAD đánh dấu biotin được thêm vào ở bước ủ thứ hai. Để phát hiện phức hợp gắn biotin, enzyme POD gắn avidin được thêm vào, enzyme có khả năng tạo phản ứng có sản phẩm màu. Độ đậm màu tỷ lệ thuận với nồng độ GADA trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

#### **2. Phương tiện, hóa chất:**

##### **2.1. Phương tiện**

Hệ thống ELISA (máy ủ, máy rửa và máy đọc)

Máy ly tâm

##### **2.2. Hoá chất**

Kit định lượng GADA

Vật liệu kiểm tra chất lượng

Nước cất

#### **3. Người bệnh:**

Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

-Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện

-Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

-Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm:**

- Huyết thanh.
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 24h, bảo quản lâu hơn ở -20°C.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật:**

- Ly tâm ống máu trong 15 phút với vận tốc 1500xg / phút.
- Tách huyết thanh/ huyết tương.
- Tiến hành các bước kỹ thuật theo quy trình của nhà sản xuất
- Tính kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích dựa vào các dung dịch chuẩn.
- Kiểm soát chất lượng:

Chạy các mức QC mỗi khi thực hiện xét nghiệm. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu QC nằm trong khoảng cho phép.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

##### **1. Giá trị tham chiếu:**

Giá trị tham chiếu: Người khoẻ mạnh GADA âm tính

##### **2. Ý nghĩa lâm sàng:**

Bệnh đái tháo đường typ1 là bệnh tự miễn gây phá huỷ tế bào đảo tụy qua cơ chế hoạt hoá tế bào T và tạo các tự kháng thể. Bệnh gặp chủ yếu ở người trẻ và chiếm khoảng 10% người bệnh đái tháo đường. Việc xác định các kháng thể tự miễn chống lại kháng nguyên tế bào tiểu đảo được sử dụng để khẳng định chẩn đoán ĐTĐ typ 1 và xác định phản ứng tự miễn giai đoạn tiền lâm sàng ở người có nguy cơ. Phần lớn các trường hợp, một hoặc nhiều kháng thể tự miễn có thể phát hiện được khi biểu hiện lâm sàng.

#### **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.**

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

## **ĐỊNH LƯỢNG GH (Growth Hormone) MÁU** **Theo kỹ thuật hóa phát quang/điện hóa phát quang**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Hormon tăng trưởng ở người (hGH- Human Growth Hormone) tồn tại ở hai dạng phân tử khác nhau có phân tử lượng 20 kDa và 22 kDa. Trên 90 % hGH tuần hoàn là đồng phân 22 kDa, bao gồm 191 acid amin. Đồng phân 20 kDa được tiết ra đồng thời với hGH 22 kDa, nó thiếu acid amin từ vị trí 32- 46 và chiếm khoảng 10 % lượng hGH toàn phần.

Sự tăng trưởng được kích thích và kiểm soát bởi hoạt động đồng hóa và gây phân bào của hormon tăng trưởng và các yếu tố tăng trưởng giống insulin (IGFs). hGH thường có tác động đồng hóa (tăng hấp thu glucose, tổng hợp protein, phân giải lipid) và chức năng chính của nó là kích thích sự kéo dài xương ở người chưa trưởng thành.

GH được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ điện hóa phát quang hoặc hóa phát quang.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

- Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp.

#### **2. Phương tiện, hóa chất:**

- Máy móc: COBAS e601, e602, e170, unicel DxI,...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng GH, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng

GH.

#### **3. Người bệnh:**

Người bệnh, người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm:**

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng Li heparin, K2- và K3- EDTA để định lượng GH. Với phương pháp hóa phát quang thì sử dụng huyết thanh và huyết tương heparin.

Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông là Li heparin, K2- và K3- EDTA. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút để tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

Bệnh phẩm ổn định trong 8 giờ ở 15- 25 °C, 1 ngày ở 2 - 8 °C, 28 ngày ở -20 °C. Chỉ đông lạnh một lần.

## **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 GH. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm GH. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm GH 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).

- Thực hiện xét nghiệm 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**

Để chẩn đoán, ngoài đo mức nền GH cần làm các nghiệm pháp kích thích hay ức chế.

+ Giá trị tham chiếu (phương pháp điện hóa phát quang máy COBAS e)

Giá trị này thay đổi theo giới và độ tuổi

+ Lứa tuổi 0 – 10 tuổi

- Nam: 0,094 – 6,29 ng/mL

- Nữ: 0,12 – 7,79 ng/mL

+ Lứa tuổi 11 – 17 tuổi

- Nam: 0,077 – 10,8 ng/mL

- Nữ: 0,123 – 8,05 ng/mL

+ Lứa tuổi 21 – 77 tuổi

- Nữ: 0,126 – 9,88 ng/mL

+ Lứa tuổi 20 – 79 tuổi

- Nam: <0,03 – 2,47 ng/mL

+ Giá trị tham chiếu (phương pháp hóa phát quang máy DxI)

Giá trị này áp dụng cho người trưởng thành và thay đổi theo giới

Nữ: 0,010 - 3,607 ng/mL

Nam: 0,003 - 0,971 ng/mL

Thừa hormon tăng trưởng: Bệnh không lồ và bệnh to cực.

Thiếu hormon tăng trưởng: Ở trẻ em làm chậm sự tăng trưởng xương, thiếu nghiêm trọng ở người lớn gây giảm lực cơ và khối lượng xương, nhạy cảm insulin,

béo bụng và tăng yếu tố nguy cơ cho tim mạch (bất thường lipid, xơ vữa động mạch)

## **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Mẫu bệnh phẩm là máu không được tách huyết thanh hay huyết tương ra khỏi cục đông ngay. Khắc phục: tách huyết thanh hay huyết tương ra khỏi cục đông ngay sau khi bệnh phẩm được gửi đến phòng xét nghiệm.

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Các mẫu có nồng độ các chất tối đa như sau không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm: Bilirubin < 428  $\mu\text{mol/L}$  ( < 25 mg/dL), tán huyết Hb < 0.310 mmol/L (< 0.500 g/dL), triglycerid < 16.95 mmol/L (< 1500 mg/dL) và biotin < 123 nmol/L (< 30 ng/mL)

Xét nghiệm bị ảnh hưởng bởi pegvisomant (chất đối kháng thụ thể GH chọn lọc) nên không thích hợp xét nghiệm cho người bệnh đang điều trị với pegvisomant.

Hiệu ứng mẫu phẩm có nồng độ cao không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm với nồng độ hGH lên đến 2000 ng/mL.

Xét nghiệm không thích hợp dùng định lượng hGH cho thai phụ do phản ứng chéo với hGH của nhau thai. hGH nhau thai là một biến thể của hGH tuyến yên và nồng độ của nó trong máu tăng trong quá trình mang thai.

Trường hợp sử dụng phương pháp điện hóa phát quang, các yếu tố sau có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:

- Ở người bệnh dùng liều cao biotin (> 5 mg/ngày), không nên lấy mẫu cho đến ít nhất 8 giờ sau khi dùng liều biotin cuối. Kết quả xét nghiệm không bị nhiễu bởi các yếu tố thấp với nồng độ lên đến 600 IU/mL.

- Trong một số hiếm trường hợp, nhiễu có thể xảy ra do nồng độ kháng thể kháng kháng thể đặc hiệu kháng chất phân tích, kháng streptavidin hay ruthenium quá cao của mẫu phẩm phân tích. Tuy nhiên, xét nghiệm đã được thiết kế nhằm giảm thiểu các hiệu ứng này.



# ĐỊNH LƯỢNG HEMOPEXIN

## I. NGUYÊN LÝ

Hemopexin đóng vai trò tương tự như haptoglobin trong việc gắn kết với thành phần heme của hemoglobin, thành phần này được phóng thích trong quá trình phân hủy hồng cầu. Trong những trường hợp tán huyết nghiêm trọng, sau khi phá hủy haptoglobin, quá trình này dẫn đến giảm mức hemopexin trong huyết thanh và huyết tương. Tương phản với haptoglobin, hemopexin không phải là protein giai đoạn cấp tính.

**Nguyên lý xét nghiệm:** miễn dịch tán xạ.

Hemopexin trong mẫu bệnh phẩm (kháng nguyên) sẽ tạo thành phức hợp miễn dịch với kháng thể đặc hiệu có trong thuốc thử. Các phức này phân tán chùm ánh sáng chiếu xuyên qua mẫu. Cường độ ánh sáng phân tán tỉ lệ thuận với nồng độ của Hemopexin trong mẫu cần phân tích. Kết quả được đánh giá dựa trên đường chuẩn với các nồng độ đã biết.

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động.

### 2. Phương tiện hóa chất

#### 2.1. Phương tiện

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec, ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cồn sát trùng, găng tay, ...

#### 2.2. Hoá chất

#### Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc

Thuốc thử chính là huyết thanh động vật và được sản xuất bằng sự tạo miễn dịch trên thỏ với hemopexin người có độ tinh khiết cao. Nồng độ của kháng thể hoạt động là <3.5 g/L. Chất bảo quản: Sodium Azide <1 g/L. Đóng gói: 1 x 2 mL

#### Bảo quản và độ ổn định

- Ổn định ở 2-8°C: đến ngày hết hạn trên nhãn hộp thuốc
- Độ ổn định sau khi mở hộp thuốc: 4 tuần nếu được lưu trữ tại 2-8°C, được đậy nắp kín ngay sau mỗi lần sử dụng để tránh bị nhiễm vi sinh vật.
- Không được để đông.

- Độ ổn định trên máy: Ít nhất là 3 ngày với mỗi 8 tiếng/ ngày, hoặc khoảng thời gian tương ứng
- Ghi chú: Độ ổn định trên máy có thể thay đổi, tùy thuộc vào máy BN sử dụng và điều kiện phòng xét nghiệm. Để biết thêm thông tin chi tiết, tham khảo thêm hướng dẫn sử dụng của BN II and BN ProSpec®.

**Hóa chất yêu cầu nhưng không được cung cấp trong hộp thuốc**

- N Protein Standard SL (người)
- N/T Protein Controls SL/L, M và H (người),
- N Reaction Buffer,
- N Diluent

**3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và ngày giờ lấy mẫu bệnh phẩm.

**III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh hoặc huyết tương (Lithium heparin)
- Mẫu huyết thanh, huyết tương càng mới càng tốt. Nếu không phân tích ngay được có thể lưu tại nhiệt độ 2 đến 8°C không quá 7 ngày; Tại nhiệt độ -20°C đến 3 tháng
- Mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và cần tránh lưu trữ đông lần 2. Mẫu bị đục sau khi rã đông cần phải được làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại tốc độ 15000 g) trước khi thực hiện xét nghiệm.

**2. Tiến hành kỹ thuật**

**2.1. Thành lập đường cong hiệu chuẩn**

Đường cong hiệu chuẩn được thành lập bởi hiệu chuẩn nhiều điểm. Một chuỗi các pha loãng của N Protein Standard SL được thực hiện tự động bởi máy sử dụng N Diluent. Các chất hiệu chuẩn pha loãng này được sử dụng trong vòng bốn giờ. Đường chuẩn này có hiệu lực chỉ khi chất kiểm chuẩn với phương pháp tương ứng, như N/T Protein Controls SL/L, M and H, được lặp lại trong khoảng tin cậy tương ứng. Cần thiết lập đường cong hiệu chuẩn mới khi một lô thuốc thử mới được sử dụng.

## **2.2. Mẫu xét nghiệm**

Mẫu được pha loãng tự động 1:20 với N Diluent. Mẫu pha loãng cần được đo trong vòng bốn giờ. Nếu kết quả thu được nằm ngoài khoảng đo, cần chạy lại mẫu với độ pha loãng cao hơn hoặc thấp hơn.

## **2.3. Nội kiểm (IQC)**

Chạy N/T Protein Controls SL/L, M và H sau khi thiết lập mỗi đường cong hiệu chuẩn, trước lần sử dụng đầu tiên của một lọ thuốc thử mới cũng như với mỗi lần chạy các mẫu. Mẫu kiểm chuẩn cũng được thực hiện và đánh giá giống như mẫu người bệnh.

Cần tuân theo các qui định hiện hành hoặc các yêu cầu về quản lý chất lượng cho tần suất chạy nội kiểm. Thực hiện lại nếu một kết quả của kiểm chuẩn nằm ngoài khoảng tin cậy và nếu kết quả chạy lại xác nhận sự sai lệch, cần thiết lập một đường chuẩn mới.

## **2.4. Cách vận hành:**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu Hemopexin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Hemopexin. Kết quả IQC Hemopexin 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).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- Giá trị tham chiếu: Hemopexin: 0.5 - 1.15 g/L
- Hemopexin giảm trong trường hợp tán huyết.
- Tuy nhiên, mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng tham chiếu riêng vì giá trị có thể khác nhau theo từng quần thể dân cư.

## **V. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi nồng độ triglycerides  $\leq 2,71 \text{ mmol/L}$  (2,4 g/L), bilirubin  $\leq 1026 \text{ } \mu\text{mol/L}$  và hemoglobin tự do  $\leq 10 \text{ g/L}$ .
- Không ghi nhận sự nhiễu từ các loại thuốc thông thường.
- Mẫu bệnh phẩm đục và các hạt trong mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm; do đó, đối với các mẫu có chứa các hạt cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm. Không sử dụng các mẫu máu nhiễm mỡ và đục mà không thể làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại 15000 x g).
- Những thay đổi từ người sử dụng sẽ không được khuyến cáo do có thể ảnh hưởng đến hiệu năng của máy và kết quả xét nghiệm. Người sử dụng có trách nhiệm thẩm định những sự thay đổi so với hướng dẫn trong Siemens Application Sheets hoặc IFU.

- Kết quả xét nghiệm luôn cần được giải thích kết hợp cùng với tiền sử bệnh lý, biểu hiện lâm sàng và các ghi nhận khác. Do ảnh hưởng bởi chất nền, các mẫu khảo sát liên phòng xét nghiệm và các mẫu kiểm chuẩn có thể cho kết quả khác so với phương pháp khác. Do đó, cần đánh giá kết quả trong mối tương quan với giá trị mục tiêu cụ thể của phương pháp.

# **ĐỊNH LƯỢNG HVA (Homovanillic acid) và VMA (Vanillyl mandelic acid) NIỆU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Dựa trên phương pháp cổ điển để xác định thành phần của acid hữu cơ niệu gồm: chiết tách bằng ethyl acetate/ tạo dẫn xuất trimethylsilyl/sử dụng hệ thống máy GCMS. Sử dụng 1mL nước tiểu để chiết tách, thêm vào 1 chất nội chuẩn là 3-phenyl butyric acid, hỗn hợp trên được bão hòa bằng NaCl và được chiết tách bằng ethyl acetate trong môi trường acid (pH 1). Sau đó làm khô mẫu. Ủ mẫu với BSTFA trong 75 phút ở 80°C để gắn các nhóm trimethylsilyl (trong BSTFA) với 2 nhóm OH của phân tử HVA, VMA. Phân tách và xác định HVA, VMA được thực hiện bằng phương pháp SIM trên máy GCMS để định lượng nồng độ HVA, VMA.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện:

+ Máy GCMS

Agilent 7890A GC System

Agilent 5975C inert XL EI/CI Mass Selective Detector with Triple Axis Detector

Agilent 7693 Autosampler

Carrier gas: helium (99.995%)

Column: HP- 5MS 30m x 0.25 mm id x 0.25 um film thickness. Catalog number 190915S-433.

+ Máy ly tâm.

+ Máy trộn multi- vortexer.

+ Hệ thống làm bay hơi dung môi.

+ Tủ sấy .

- Hóa chất:

▪ 3 Phenylbutyric acid (nội chuẩn 1), Hydroxylamonium 1%, BSTFA, Hexane, Ethyl acetate, Acid HCl 37%, NaCl.

▪ Nước cất.

▪ QC mức 1 (hãng Bio – rad).

▪ QC mức 2 (hãng Bio – rad).

▪ Chuẩn VMA/HVA/5-HIAA.

**Hoàn nguyên chuẩn**

- Thêm 5 mL HCl 0,2M.

- Để 15 phút ở nhiệt độ phòng.
- Trộn đều cẩn thận (dùng máy lắc ngang)
- Để thêm 15 phút.
- Trộn đều cẩn thận.
- Chia đều mỗi 1,25 mL dung dịch chuẩn vào ống nhựa Eppendof, dán nhãn HVA-VMA STD, bảo quản trong ngăn đá tủ lạnh.
- Chuẩn này dùng trong chuẩn bị Chuẩn mức 1 đến mức 3.

### **Hoàn nguyên QC**

- Thêm 10 mL HCl 0,05M.
- Để đứng yên 15 phút ở nhiệt độ phòng.
- Trộn đều cẩn thận.
- Để đứng yên thêm 15 phút.
- Trộn đều cẩn thận.

Chia đều mỗi 1,1 mL dung dịch chuẩn vào cup nhựa, dán nhãn HVA-VMA QC1 và HVA-VMA QC2, bảo quản trong ngăn đá tủ lạnh.

**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 theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Nước tiểu tươi hoặc nước tiểu 24 giờ là mẫu bệnh phẩm cho xét nghiệm này.

Hướng dẫn xử lý và bảo quản bệnh phẩm nước tiểu:

#### **\* Nước tiểu tươi:**

- Chia làm 2 ống:
  - + Ống số 1: chứa sẵn 0,5 mL HCl 0,1M, làm đầy chính xác thành 5mL.
  - + Ống số 2: không có chất bảo quản, thể tích 2 - 3mL.

Đậy nắp kín.

Nước tiểu tươi, tránh nhiễm khuẩn và nhiễm phân. Nên lấy mẫu nước tiểu sáng sớm sau ngủ dậy. Vận chuyển ngay đến phòng xét nghiệm trong vòng 4 giờ sau khi thu thập.

*Tiêu chuẩn nhận nước tiểu:*

Ống số 1: pH<3, kiểm tra lượng nước tiểu trong ống có chính xác 5mL hay không, nếu không ghi lại chính xác thể tích nước tiểu đo được vào phiếu xét nghiệm.

Bệnh phẩm trong ống số 1 được lắc đều, cất vào 2 ống Eppendorf tối thiểu 1,5mL, bảo quản trong ngăn đá tủ lạnh.

Bệnh phẩm trong ống số 2 được định lượng nồng độ Creatinin niệu rồi ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm.

**\* Nước tiểu 24 giờ:**

Dùng HCl đặc để bảo quản, thể tích HCl cho mỗi người bệnh: 2mL.

Thu thập nước tiểu 24 giờ theo nguyên tắc thu thập nước tiểu 24 giờ.

Ghi tổng thể tích nước tiểu 24 giờ vào phiếu xét nghiệm.

Tiêu chuẩn nhận nước tiểu: pH<3.

Bệnh phẩm được lắc đều, cất vào 2 ống Eppendorf tối thiểu 1,5mL, bảo quản trong ngăn đá tủ lạnh.

**2. Tiến hành kỹ thuật**

**2.1 Quá trình chiết tách mẫu bệnh phẩm nước tiểu**

1. Kiểm tra áp lực bình khí heli. Yêu cầu thay bình khí nếu áp lực < 100 psi.
2. Rã đông bệnh phẩm, nội chuẩn và 2 mức QC.
3. Kiểm tra nhiệt độ lò ủ đạt 80°C.
4. Chuẩn bị bộ phận tự động hút bệnh phẩm Agilent 7963 (autosampler):
  - Thay thể dung môi (hexane) trong 2 lọ đựng dung môi để rửa syringe.Chú ý: lượng hexane trong lọ phải đầy ngang vai của lọ.\
- Rửa sạch 5 lọ đựng chất thải bằng ethyl acetate.
5. Chạy chương trình “Baking” trong máy GCMS.  
Chương trình chạy sẽ kết thúc sau khoảng 1 giờ.
6. Dán nhãn ống thủy tinh (kích thước 20 x 125 mm) chuẩn bị cho chiết tách.
7. Trong các ống thủy tinh này, dùng pipet hút nội chuẩn, QC, bệnh phẩm theo

bảng sau:

| Ống STT | Bệnh phẩm   | Chuẩn/QC/<br>Bệnh phẩm | HCl 0,2M | Nội chuẩn |
|---------|-------------|------------------------|----------|-----------|
| 1       | Chuẩn mức 1 | 200 uL                 | 800 uL   | 50 uL     |
| 2       | Chuẩn mức 2 | 400 uL                 | 600 uL   | 50 uL     |
| 3       | Chuẩn mức 3 | 1000 uL                | 0 uL     | 50 uL     |
| 4       | QC 1        | 1000 uL                | 0 uL     | 50 uL     |
| 5       | QC 2        | 1000 uL                | 0 uL     | 50 uL     |

|   |                          |         |      |       |
|---|--------------------------|---------|------|-------|
| 6 | Nước tiểu của người bệnh | 1000 uL | 0 uL | 50 uL |
|---|--------------------------|---------|------|-------|

8. Trộn đều mỗi ống và để 30 phút ở nhiệt độ phòng.
9. Acid hóa đến pH1 bằng 2 giọt HCl 37%. Kiểm tra bằng giấy quỳ.
10. Thêm 1 thìa nhỏ NaCl để tạo thành một dung dịch bão hòa.
11. Thêm 3 mL ethyl acetate. Đậy nắp và trộn đều với máy trộn trong 5 phút.
12. Ly tâm 2500 vòng trong 5 phút.
13. Chuyển lớp chất lỏng phía trên vào lọ thủy tinh nắp xoáy 4mL:  
Sử dụng pipet pasteur và hút thật chậm. Bắt đầu hút từ lớp chất lỏng trên cùng tới giao diện của 2 lớp chất lỏng mà không chạm vào thành của ống thủy tinh.
14. Sấy khô bằng máy làm bay hơi dung môi với khí nitơ ở nhiệt độ phòng.
15. Kiểm tra lọ thật khô trước khi tiến hành bước tiếp theo.
16. Thêm 200 uL BSTFA, đậy nắp, trộn đều và đặt vào lò ủ 80°C trong 1h 15 phút.
17. Chuẩn bị lọ đựng mẫu (autosampler vial), dán nhãn, trên nhãn ghi ngày chiết tách bệnh phẩm. Đặt mỗi glass insert vào trong lọ đựng mẫu.
18. Chuyển bệnh phẩm đã được chiết tách vào trong glass insert tương ứng bằng pipet 200 uL.
19. Đậy nắp và trộn đều.
20. Để lọ đựng mẫu vào khay đựng bệnh phẩm trên bộ phận bơm mẫu tự động theo đúng vị trí.

## 2.2 Vận hành GCMS

Vận hành máy GCMS và tiến hành phân tích mẫu theo hướng dẫn sử dụng máy GCMS tại phòng Xét nghiệm.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Xác định kết quả nằm trong giới hạn bình thường:

| Lứa tuổi (năm) | HVA ( $\mu\text{mol}/24\text{h}$ ) | HVA Creatinin ( $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ ) |
|----------------|------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 0 - 1          | <8                                 | 4.7 - 21                                      |
| 1 - 5          | <17                                | 2.8 - 15.8                                    |
| 5 - 10         | 3 - 37                             | 0.7 - 9.5                                     |
| 10 - 20        | 2 - 40                             | < 7                                           |
| >20            | < 45                               | < 7                                           |



| <b>Tuổi (năm)</b> | <b>VMA (<math>\mu\text{mol}/\text{mmol Creatinin}</math>)</b> |
|-------------------|---------------------------------------------------------------|
| 0 – 1             | < 11                                                          |
| 2 – 4             | < 6                                                           |
| 5 – 9             | < 5                                                           |
| 10 – 19           | < 5                                                           |
| >19               | < 3                                                           |

- Trả kết quả theo yêu cầu cùng với khoảng bình thường.
- Nếu kết quả rơi vào khoảng nguy hiểm, báo ngay cho bác sĩ lâm sàng.

#### **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Không lấy đủ thể tích mẫu nước tiểu 24h. Yêu cầu lấy lại
- Mẫu nước tiểu tươi để lâu quá 2 tiếng mà không được bảo quản lạnh, yêu cầu lấy lại mẫu khác.

## **ĐỊNH LƯỢNG IA2A (Islet Antigen 2-autoantibodies) MÁU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IA2A được định lượng bằng kỹ thuật ELISA.

Huyết thanh người bệnh được ủ với IA2A gắn trên các vi giếng. Nếu trong mẫu có kháng thể kháng IA2A, kháng thể đặc hiệu sẽ gắn IA2A. Kháng thể này có thể gắn với IA2A đánh dấu biotin được thêm vào ở bước ủ thứ hai. Để phát hiện phức hợp gắn biotin, enzyme POD gắn avidin được thêm vào, enzyme có khả năng tạo phản ứng có sản phẩm màu. Độ đậm màu tỷ lệ thuận với nồng độ kháng thể kháng IA2A trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

#### **2. Phương tiện, hóa chất:**

##### **2.1. Phương tiện:**

Hệ thống ELISA (máy ủ, máy rửa và máy đọc).

Máy ly tâm

##### **2.2. Hoá chất**

Kit định lượng IA2A

Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC 1,2)

Pipet, ống nghiệm

Nước cất

#### **3. Người bệnh:**

Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm:**

- Huyết thanh, huyết tương chống đông EDTA.
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 24h, bảo quản lâu hơn ở -20°C.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

## **2. Tiến hành kỹ thuật:**

- Ly tâm ống máu trong 15 phút với vận tốc 1500xg / phút.
- Tách huyết thanh/ huyết tương.
- Tiến hành các bước kỹ thuật theo quy trình của nhà sản xuất
- Tính kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích dựa vào các dung dịch chuẩn.
- Kiểm soát chất lượng:

Chạy các mức QC mỗi khi thực hiện xét nghiệm. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu QC nằm trong khoảng cho phép.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **Giá trị tham chiếu:**

Người khoẻ mạnh IA2A < 10 IU/mL

### **Ý nghĩa lâm sàng:**

Bệnh đái tháo đường typ1 là bệnh tự miễn gây phá huỷ tế bào đảo tụy qua cơ chế hoạt hoá tế bào T và tạo các tự kháng thể. Bệnh gặp chủ yếu ở người trẻ và chiếm khoảng 10% người bệnh đái tháo đường. Việc xác định các kháng thể tự miễn chống lại kháng nguyên tế bào tiểu đảo được sử dụng để khẳng định chẩn đoán ĐTĐ typ 1 và xác định phản ứng tự miễn giai đoạn tiền lâm sàng ở người có nguy cơ. Phần lớn các trường hợp, một hoặc nhiều kháng thể tự miễn có thể phát hiện được khi biểu hiện lâm sàng.

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

## **ĐỊNH LƯỢNG ICA (Islet cells autoantibodies) MÁU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

ICA- Islet cells autoantibodies- Kháng thể kháng tế bào tiểu đảo, ICA được định lượng bằng kỹ thuật ELISA.

Huyết thanh người bệnh được ủ với kháng nguyên tế bào tiểu đảo gắn trên các vi giếng. Nếu trong mẫu có ICA, kháng thể đặc hiệu sẽ gắn kháng nguyên tế bào tiểu đảo. Kháng thể này có thể gắn với kháng nguyên đánh dấu biotin được thêm vào ở bước ủ thứ hai. Để phát hiện phức hợp gắn biotin, enzyme POD gắn avidin được thêm vào, enzyme có khả năng tạo phản ứng có sản phẩm màu. Độ đậm màu tỷ lệ thuận với nồng độ ICA trong mẫu thử.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

#### **2. Phương tiện, hóa chất:**

##### **2.1. Phương tiện:**

Hệ thống ELISA (máy ủ, máy rửa và máy đọc).

Máy ly tâm

##### **2.2. Hoá chất**

Kit định lượng ICA

Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC 1,2)

Nước cất

#### **3. Người bệnh:**

Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm:**

- Huyết thanh.
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 24h, bảo quản lâu hơn ở -20°C.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

## **2. Tiến hành kỹ thuật:**

- Ly tâm ống máu trong 15 phút với vận tốc 1500xg / phút.
- Tách huyết thanh/ huyết tương.
- Tiến hành các bước kỹ thuật theo quy trình của nhà sản xuất
- Tính kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích dựa vào các dung dịch chuẩn.
- Kiểm soát chất lượng:

Chạy các mức QC mỗi khi thực hiện xét nghiệm. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu QC nằm trong khoảng cho phép.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **Giá trị tham chiếu:**

Người khoẻ mạnh ICA âm tính

### **Ý nghĩa lâm sàng:**

Bệnh đái tháo đường typ1 là bệnh tự miễn gây phá huỷ tế bào đảo tụy qua cơ chế hoạt hoá tế bào T và tạo các tự kháng thể. Bệnh gặp chủ yếu ở người trẻ và chiếm khoảng 10% người bệnh đái tháo đường. Việc xác định các kháng thể tự miễn chống lại kháng nguyên tế bào tiểu đảo được sử dụng để khẳng định chẩn đoán ĐTĐ typ 1 và xác định phản ứng tự miễn giai đoạn tiền lâm sàng ở người có nguy cơ. Phần lớn các trường hợp, một hoặc nhiều kháng thể tự miễn có thể phát hiện được khi biểu hiện lâm sàng.

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.**

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU Dermatophagoides pteronyssinus máu**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu *Dermatophagoides pteronyssinus* được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu *Dermatophagoides pteronyssinus* chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides pteronyssinus* đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411,
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
  - + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
  - + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
  - + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
  - + Hộp dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides pteronyssinus* có mã vạch;
  - + Cơ chất hóa phát quang.
    - Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.
- 3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu Dermatophagoides pteronyssinus quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu Dermatophagoides pteronyssinus, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L      | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|-----------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10    | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34 | Rất thấp                          |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.



## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ENTEROTOXIN A (S AUREUS) TRONG MÁU**

### **Bảng viết tắt**

- IgE : Immunoglobulin E
- S. aureus : Staphylococcus aureus
- PXN: Phòng xét nghiệm

### **I. NGUYÊN LÝ**

Enterotoxin A là độc tố được tiết ra bởi Staphylococcus aureus (S. aureus), là tác nhân chính gây ra các bệnh như ngộ độc thực phẩm hoặc sốc nhiễm độc. Định lượng IgE đặc hiệu enterotoxin A là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên enterotoxin A.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu enterotoxin A (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu enterotoxin A (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu enterotoxin A có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút; Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ kỹ thuật phù hợp

#### **2. Phương tiện , hóa chất**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

*Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị

sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

4. **Người bệnh:** người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

5. **Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lặp lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.
- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần

- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

#### V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq$  200 mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq$  500 mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq$  3000 mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ALBUMIN TRỨNG TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu albumin trứng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu albumin trứng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu albumin trứng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
  - + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
  - + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
  - + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
  - + Hộp dị nguyên đặc hiệu albumin trứng có mã vạch;
  - + Cơ chất hóa phát quang.
    - Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.
- 3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.
- 4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
- + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
- + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu albumin trứng quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
- + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
- + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu albumin trứng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
- + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.



# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ALPHA – LACTALBUMIN TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu alpha-lactalbumin (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu alpha-lactalbumin (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu alpha-lactalbumin có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

**Thành phần bộ kit gồm có:**

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng thể đơn dòng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải người của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- **Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4):** Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- **Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1):** Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- **Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2):** Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- **Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2):** Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

### ***Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng***

- **Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ):** Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thái bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- **Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng.** Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- **L2SUBM:** Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1-33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34-66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67-99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đậm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000. Để có danh sách đầy đủ và số catalog, vui lòng tham khảo Menu 3gAllergy.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu Alpha-lactalbumin vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán)

## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU AMOXICILIN**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu AMOXICILLIN được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu AMOXICILLIN chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu AMOXICILLIN đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hóa phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu AMOXICILLIN có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
- + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
- + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu AMOXICILLIN quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
- + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
- + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu AMOXICILLIN, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
- + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L      | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|-----------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10    | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34 | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69 | Thấp                              |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **VI. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.



# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU AMPICILIN**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu AMPICILLIN được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu AMPICILLIN chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu AMPICILLIN đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu **AMPICILLIN** có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu AMPICILLIN quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu AMPICILLIN, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **VII. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ANISAKIS TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

## **I. NGUYÊN LÝ**

Anisakis là loại giun tròn thường ký sinh ở những động vật biển như cá thu, cá hồi, cá trích, mực ống. Đối với người, bệnh thường gặp ở những đối tượng người bệnh có tập quán, sở thích ăn gỏi các loại cá biển, mực, bạch tuộc còn sống, chưa được nấu chín kỹ. Ấu trùng giun có thể xâm nhập qua đường tiêu hóa khi ăn phải thức ăn hải sản nói trên không bảo đảm an toàn vệ sinh thực phẩm. Định lượng IgE đặc hiệu ấu trùng Anisakis là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng nhiễm, dị ứng của cơ thể với ấu trùng Anisakis.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu ấu trùng Anisakis (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu ấu trùng Anisakis (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu ấu trùng Anisakis có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

1 người có trình độ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút

- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nôm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nôm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin từ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nôm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

*Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu ấu trùng Anisakis: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đậm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

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 người bệnh bao gồm tên, tuổi, giới tính, tiền sử bệnh, thời gian lấy mẫu, khoa phòng, chẩn đoán và ghi rõ chỉ định xét nghiệm, tình trạng mẫu.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lặp lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.
- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần

- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

#### VI. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.



# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ASPERGILLUS FUMIGATUS TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

## **I. NGUYÊN LÝ**

*Aspergillus fumigatus* là vi nấm gặp chủ yếu ở người bệnh sử dụng kháng sinh phổ rộng kéo dài và người bệnh suy giảm miễn dịch. Định lượng IgE đặc hiệu *Aspergillus fumigatus* là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng nhiễm, dị ứng của cơ thể với tác nhân này.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu *Aspergillus fumigatus* (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu *Aspergillus fumigatus* (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu *Aspergillus fumigatus* có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

1 người có trình độ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút

- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin từ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

*Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu *Aspergillus fumigatus*: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2–8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

**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 người bệnh bao gồm tên, tuổi, giới tính, tiền sử bệnh, thời gian lấy mẫu, khoa phòng, chẩn đoán và ghi rõ chỉ định xét nghiệm, tình trạng mẫu.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
  - Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
  - Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
  - Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nêm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nêm.
- Đóng hộp hình nêm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nêm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lặp lại quy trình này để nạp hộp hình nêm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nêm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nêm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nêm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.
- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần

- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU BẠCH TUỘC TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu bạch tuộc (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu bạch tuộc (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu bạch tuộc có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất** Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

#### **Thành phần bộ kit gồm có:**

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.

- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

### ***Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng***

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1-33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34-66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67-99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**



### 1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu bạch tuộc máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu bạch tuộc. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu bạch tuộc 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu bạch tuộc không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu bạch tuộc vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU BETA-LACTOGLOBIN TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu beta - lactoglobulin (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu beta - lactoglobulin (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu beta - lactoglobulin có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

**Thành phần bộ kit gồm có:**

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng

IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

### ***Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng***

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.

- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này

- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bình phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bình phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bình phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bình phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bình phẩm sau khi rã đông. Để tránh hiện tượng bay hơi, bình 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 định lượng IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu Beta-lactoglobulin vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU BIỂU MÔ CỦA CHÓ (DOG EPITHELIUM)**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium) được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium) chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium) đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu biểu mô của chó (Dog epithelium) kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

### **3. Người bệnh**



Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(-25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chó. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chó. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chó 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L      | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|-----------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10    | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34 | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69 | Thấp                              |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu biểu mô của chó không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu biểu mô của chó vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU BIỂU MÔ CỦA CHUỘT (MOUSE EPITHELIUM)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IgE đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium) được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium) chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium) đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

##### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu biểu mô của chuột (Mouse epithelium) kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

### 3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### 4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(-25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu biểu mô của chuột. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chuột. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô của chuột 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L | Mức phản ứng với dị nguyên |
|-----|------|----------------------------|
|-----|------|----------------------------|

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | ≥ 100       |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu biểu mô của chuột không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu biểu mô của chuột vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU BIỂU MÔ GÀU CỦA MÈO (CAT DANDER EPITHELIUM)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu biểu mô gàu của mèo được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu biểu mô gàu của mèo chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu biểu mô gàu của mèo đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

#### *2.1. Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### *2.2. Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu biểu mô gàu của mèo có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu biểu mô gàu của mèo quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu biểu mô gàu của mèo, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | ≥ 100       |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.



# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU *BLOMIA TROPICALLIS* TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

## **I. NGUYÊN LÝ**

*Blomia tropicallis* thuộc lớp nhện thường có trong mẫu bụi nhà (còn có tên mạt nhà). Khi tiếp xúc với cơ thể người, *Blomia tropicallis* tạo nên yếu tố kích thích, khơi mào cho các bệnh viêm dị ứng nếu kết hợp với các yếu tố thuận lợi khác như gene di truyền. Định lượng IgE đặc hiệu *Blomia tropicallis* là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với tác nhân này.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu *Blomia tropicallis* (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu *Blomia tropicallis* (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người

liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu *Blomia tropicallis* có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện , hóa chất**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

*Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu *Blomia tropicallis*: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2–8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

**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 theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyển thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyển thuốc thử.
- Lặp lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.

- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần
- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CÀ CHUA TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cà chua (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu cà chua (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu cà chua có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

#### **Thành phần bộ kit gồm có:**

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

### ***Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng***

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.



- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu cả chua máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu cả chua. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu cả chua 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu cà chua không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu cà chua vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

# ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CÁ HỒI TRONG MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

IgE đặc hiệu cá hồi được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu cá hồi chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu xoài đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện:
  - Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
  - Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
  - Tủ lạnh
  - Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất:
  - + Gói hạt có gắn anti-ligand;
  - + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 ml enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
  - + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
  - + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
  - + Dị nguyên đặc hiệu cá hồi kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
  - + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho dị nguyên đặc hiệu cá hồi vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu xoài, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |
| IV  | 17.5–52.49 |                                   |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| V          | 52.5–99.99  | Rất cao                           |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CÁ NGỪ TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE đặc hiệu cá ngừ được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu xoài chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu cá ngừ đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện:
  - Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
  - Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
  - Tủ lạnh
  - Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất:
  - + Gói hạt có gắn anti-ligand;
  - + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 ml enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
  - + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
  - + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
  - + Dị nguyên đặc hiệu cá ngừ kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
  - + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho dị nguyên đặc hiệu cá ngừ vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu cá ngừ, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |
| IV  | 17.5–52.49 |                                   |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| V          | 52.5–99.99  | Rất cao                           |
| VI         | ≥ 100       |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.



# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CÀ RỐT TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cà rốt (tiền hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu cà rốt (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu cà rốt có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

#### **Thành phần bộ kit gồm có:**

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

### ***Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng***

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu cả rôt máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu cả rôt. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu cả rôt 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq$  200 mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq$  500 mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq$  3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu cả rồi không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu cả rồi vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CAM TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cam (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu cam (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzyme được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzyme gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzyme không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu cam có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

#### **Thành phần bộ kit gồm có:**

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

### ***Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng***

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.



- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(-25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu cam máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu cam. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu cam 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu cam không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu cam vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CẦN TÂY TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu cần tây (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu cam (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu cần tây có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit**

##### **Thành phần bộ kit gồm có:**

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

### ***Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng***

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(-25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu cần tây máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu cần tây. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu cần tây 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu cần tây không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu cần tây vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CANDIDA ALBICANS TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

## **I. NGUYÊN LÝ**

Candida albican là vi nấm thuộc nhóm nấm men, có hình bầu dục hoặc hình tròn, gây bệnh phổ biến ở người. Định lượng IgE đặc hiệu Candida albican là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng nhiễm nấm hoặc các bệnh do Candida albican.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Candida albicans (tiền hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu Candida albicans (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu Candida albicans có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

1 người có trình độ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh

### **2. Phương tiện , hóa chất**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™Specific IgE Universal Kit



*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

*Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C

hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu *Candida albican*: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyền thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nêm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nêm.
- Đóng hộp hình nêm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nêm chứa dị nguyên vào băng chuyền thuốc thử.
- Lặp lại quy trình này để nạp hộp hình nêm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nêm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nêm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nêm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.
- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần

- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CASEIN TRONG MÁU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu casein (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu casein (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu casein có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

##### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

#### *Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu casein máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu casein. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu casein 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.



- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu casein không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu casein vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CHUỐI TRONG MÁU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu chuỗi được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu chuỗi chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu chuỗi đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu chuỗi có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

- Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu chuỗi quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu chuỗi, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CLADOSPORIUM HERBARIUM TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

## **I. NGUYÊN LÝ**

Cladosporium herbarium là nấm mốc (mold) ngoài môi trường thường gặp nhất trên khắp thế giới. Cladosporium herbarium có thể gây dị ứng hoặc nặng hơn có thể gây hen suyễn thậm chí viêm xoang. Định lượng IgE đặc hiệu Cladosporium herbarium là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với tác nhân này.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Cladosporium herbarium (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu Cladosporium herbarium (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu Cladosporium herbarium có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện , hóa chất**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

*Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu *Cladosporium herbarium*: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2–8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nêm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nêm.
- Đóng hộp hình nêm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nêm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lặp lại quy trình này để nạp hộp hình nêm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nêm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nêm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nêm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.



- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần
- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU CUA TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

IgE : Immunoglobulin E

## **I. NGUYÊN LÝ**

Immunoglobulin E (IgE) là một kháng thể được sản xuất bởi tương bào có vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch bảo vệ cơ thể chống lại ký sinh trùng và các vật lạ xâm nhập cơ thể (dị nguyên). Định lượng IgE đặc hiệu kháng nguyên của là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên là của.

IgE đặc hiệu của được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu của chia thành 2 chu kỳ:

Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu của đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện:

- + Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác.
- + Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- + Tủ lạnh
- + Dụng cụ lấy máu: Bông cồn, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

- Hóa chất:

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu cuakèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**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 theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho dị nguyên đặc hiệu của vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu của, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | ≥ 100       |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ĐÀO TRONG MÁU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu đào được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu đào chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu đào đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
  - + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
  - + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
  - + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
  - + Hộp dị nguyên đặc hiệu đào có mã vạch;
  - + Cơ chất hóa phát quang.
    - Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.
- 3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.
- 4. Phiếu xét nghiệm**
- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu đào quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu đào, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |
| IV  | 17.5–52.49 |                                   |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| V          | 52.5–99.99  | Rất cao                           |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU DÂU TÂY TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu dâu tây (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu dâu tây (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu dâu tây có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit**

##### **Thành phần bộ kit gồm có:**

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của



người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

### ***Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng***

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu dấu tây máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu dấu tây. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu dấu tây 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu dâu tây không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu dâu tây vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ĐẬU TƯƠNG TRONG MÁU**

### **Bảng viết tắt**

- IgE : Immunoglobulin E

### **I. NGUYÊN LÝ**

Immunoglobulin E (IgE) là một kháng thể được sản xuất bởi tương bào có vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch bảo vệ cơ thể chống lại ký sinh trùng và các vật lạ xâm nhập cơ thể (dị nguyên). Định lượng IgE đặc hiệu đậu tương là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên là đậu tương.

IgE đặc hiệu đậu tương được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu đậu tương chia thành 2 chu kỳ:

Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu đậu tương đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện:
  - + Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác.
  - + Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
  - + Tủ lạnh
  - + Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất:
  - + Gói hạt có gắn anti-ligand;
  - + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
  - + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
  - + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
  - + Dị nguyên đặc hiệu đậu tương kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;

+ Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho dị nguyên đặc hiệu đậu tương vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu đậu tương, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;

- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | ≥ 100       |                                   |

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU *Dermatophagoides farinae* TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu *Dermatophagoides farinae* được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu *Dermatophagoides farinae* chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides farinae* đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hóa phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides farinae* có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.
  - Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.



- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides farinae* quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu *Dermatophagoides farinae*, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L      | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|-----------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10    | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34 | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69 | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49 | Vừa phải                          |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU DỨA TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu dứa được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu dứa chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu dứa đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu dứa có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.
  - Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu dựa quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu dựa, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |
| IV  | 17.5–52.49 |                                   |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| V          | 52.5–99.99  | Rất cao                           |
| VI         | ≥ 100       |                                   |

## **V. -NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU DỪA TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu dừa (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu dừa (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu dừa có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

#### *Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.



- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu dựa trên máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu dựa trên máu. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu dựa trên máu 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu dừa không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu dừa vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU GẠO TRONG MÁU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu gạo được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu gạo chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu gạo đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

### **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu gạo có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu gao quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu gao, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |
| IV  | 17.5–52.49 |                                   |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| V          | 52.5–99.99  | Rất cao                           |
| VI         | ≥ 100       |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU GÀU CỦA CHÓ (DOG DANDER) TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu gàu của chó được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu hiệu gàu của chó chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu gàu của chó đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu đặc hiệu gàu của chó có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
- + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
- + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu gàu của chó quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
- + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
- + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu gàu của chó, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
- + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L      | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|-----------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10    | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34 | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69 | Thấp                              |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.



# ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU GIÁN TRONG MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu gián được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu gián chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu gián đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### 2.1. *Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### 2.2. *Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu gián có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

- Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu gián, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. -NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU GLUTEN TRONG MÁU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu gluten (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu gluten (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu gluten có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

##### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

#### *Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu gluten máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu gluten. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu gluten 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu gluten không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu gluten vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).



# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU HẠT VÙNG TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

- IgE : Immunoglobulin E

## **I. NGUYÊN LÝ**

Immunoglobulin E (IgE) là một kháng thể được sản xuất bởi tương bào có vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch bảo vệ cơ thể chống lại ký sinh trùng và các vật lạ xâm nhập cơ thể (dị nguyên). Định lượng IgE đặc hiệu hạt vùng là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên là hạt vùng.

IgE đặc hiệu hạt vùng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu hạt vùng chia thành 2 chu kỳ:

Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu hạt vùng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện:

- + Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác.
- + Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- + Tủ lạnh
- + Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

- Hóa chất:

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu hạt vùng kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

### **3. Người bệnh:**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho dị nguyên đặc hiệu hạt vùng vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu hạt vùng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | ≥ 100       |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

## ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU KHOAI LANG TRONG MÁU

### I. NGUYÊN LÝ

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu khoai lang (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu khoai lang (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng thể đơn dòng trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzyme được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzyme gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzyme không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu khoai lang có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng thể đơn dòng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

#### *Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò

- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2–8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### 3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### 4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.
- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.

- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(-25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu khoai lang máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu khoai lang. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu khoai lang 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin  $\leq$  200 mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq$  500 mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq$  3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu khoai lang không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu khoai lang vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).



# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU KHOAI TÂY TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu khoai tây (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phối tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu khoai tây (được đánh dấu phối tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phối tử, sau đó gắn kết với kháng phối tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu khoai tây có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phối tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

#### *Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(-25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu khoai tây máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu khoai tây. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu khoai tây 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu khoai tây không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu khoai tây vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LẠC TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

- IgE : Immunoglobulin E

## **I. NGUYÊN LÝ**

Immunoglobulin E (IgE) là một kháng thể được sản xuất bởi tương bào có vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch bảo vệ cơ thể chống lại ký sinh trùng và các vật lạ xâm nhập cơ thể (dị nguyên). Định lượng IgE đặc hiệu lạc là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên là lạc.

IgE đặc hiệu lạc được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu lạc chia thành 2 chu kỳ:

Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu lạc đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện:

- + Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- + Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- + Tủ lạnh
- + Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

- Hóa chất:

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu lạc kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;

+ Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. **Người bệnh:** người bệnh người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho dị nguyên đặc hiệu lạc vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu lạc, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | ≥ 100       |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.



# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LATEX TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

## **I. NGUYÊN LÝ**

Latex có bản chất là nhựa cao su gặp rất phổ biến trong môi trường sống. Định lượng IgE đặc hiệu latex là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với tác nhân này.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Latex (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu Latex (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu Latex có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện , hóa chất**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

*Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở

nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nôm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu latex: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nôm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nôm.
- Đóng hộp hình nôm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lặp lại quy trình này để nạp hộp hình nôm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nôm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nôm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nôm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.
- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần

- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LÔNG GÀ (CHICKEN FEATHERS)

## I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu lông gà được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu lông gà chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu lông gà đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

*2.1. Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

*2.2. Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu lông gà có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

#### IV. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

##### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

##### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
- + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
- + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu lông gà quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
- + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
- + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu lông gà, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
- + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.



# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LÒNG TRẮNG TRỨNG TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu lòng trắng trứng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu lòng trắng trứng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu lòng trắng trứng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

*2.1. Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

*2.2. Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu lòng trắng trứng có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu lòng trắng trứng quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu lòng trắng trứng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LÔNG VỊT (DUCK FEATHERS) TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu lông vịt được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu lông vịt chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu lông vịt đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hóa phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- **Dụng cụ lấy máu:** Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu lông vịt có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu lông vịt quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu lông vịt, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU LÚA MÌ TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu lúa mì được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu lúa mì chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu lúa mì đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp.

**2. Phương tiện, hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu lúa mì có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu lúa mì quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu lúa mì, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |



| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU MẬT ONG TRONG MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu mật ong được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu mật ong chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu mật ong đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## II. CHUẨN BỊ

1. **Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

2. **Phương tiện, hóa chất**

### 2.1. *Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### 2.2. *Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu mật ong có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.
- Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

3. **Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

4. **Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu mật ong quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu mật ong, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU MÙ TẠT TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu mù tạt được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu mù tạt chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu mù tạt đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### **2.1 Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### **2.2 Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu mù tạt có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.
  - Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## II. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
- + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
- + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu mù tạt quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
- + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
- + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu mù tạt, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
- + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU MÙI TÂY TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE đặc hiệu mùi tây được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang.

Nguyên lý kỹ thuật:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu mùi tây đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

2.1. Phương tiện:

Máy xét nghiệm IMMULITE 2000

2.2. Hóa chất:

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu mùi tây kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**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 theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

**1. Lấy bệnh phẩm**



- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

## 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho dị nguyên đặc hiệu mùi tây vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu mùi tây, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |
| IV  | 17.5–52.49 | Rất cao                           |
| V   | 52.5–99.99 |                                   |
| VI  | ≥ 100      |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU NẤM TRONG MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu nấm được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu nấm chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu nấm đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### 2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### 2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu nấm có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.
  - Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu nắm quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu nắm, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |
| IV  | 17.5–52.49 |                                   |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| V          | 52.5–99.99  | Rất cao                           |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU NỌC ONG MẬT TRONG MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu nọc ong mật được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu nọc ong mật chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu nọc ong mật đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### 2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### 2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu nọc ong mật có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu nọc ong mật quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu nọc ong mật, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

- IgE tăng trong các trường hợp dị ứng, hen phế quản, viêm mũi dị ứng, viêm xoang, chàm dị ứng, bệnh đa u tủy xương loại IgE, bệnh bong nước da dạng pemphigus, viêm quanh động mạch thành nút, nhiễm ký sinh trùng, nấm phổi...
- IgE giảm trong các trường hợp thiếu hụt IgE bẩm sinh, ung thư giai đoạn cuối không điều trị, ung thư biểu mô giai đoạn nặng, chứng mất điều hòa giãn mao mạch, AIDS,...

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.



# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU NỌC ONG VÀNG TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu nọc ong vàng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu nọc ong vàng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu nọc ong vàng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### *2.1. Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411.
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay.

### *2.2. Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu nọc ong vàng có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
- + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
- + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu nọc ong vàng quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
- + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
- + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu nọc ong vàng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
- + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ONG BẮP CÂY TRẮNG TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu ong bắp cây trắng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu ong bắp cây trắng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu ong bắp cây trắng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### *2.1. Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411.
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay.

### *2.2. Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu ong bắp cây trắng có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
- + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
- + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu ong bắp cày trắng quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
- + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
- + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu ong bắp cày trắng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
- + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L      | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|-----------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10    | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34 | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69 | Thấp                              |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ONG BẮP CÂY VÀNG TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu ong bắp cây vàng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu ong bắp cây vàng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu ong bắp cây vàng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### *2.1. Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, v.v
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay.

### *2.2. Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu ong bắp cây vàng có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
- + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
- + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu ong bắp cày vàng quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
- + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
- + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu ong bắp cày vàng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
- + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L      | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|-----------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10    | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34 | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69 | Thấp                              |



| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU ONG GIẤY TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu ong giấy được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu ong giấy chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu ong giấy đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### *2.1. Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### *5.1. Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu ong giấy có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu ong giấy quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu ong giấy, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU PENICILLIUM NOTATUM TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

## **I. NGUYÊN LÝ**

Penicillium là dạng nấm mốc (mold) mọc trên bánh mì, trái cây và đậu phộng cũ. Penicillium notatum (tên khác Penicillium chrysogenum) là nguồn sản xuất kháng sinh beta-lactam mà chủ yếu là penicillin. Định lượng IgE đặc hiệu Penicillium notatum là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với tác nhân này.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Penicillium notatum (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu Penicillium notatum (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu Penicillium notatum có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện , hóa chất**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh

- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...
- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

*Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu *Penicillium notatum*: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2–8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyển thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nêm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nêm.
- Đóng hộp hình nêm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nêm chứa dị nguyên vào băng chuyển thuốc thử.
- Lặp lại quy trình này để nạp hộp hình nêm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nêm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nêm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nêm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.



- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần
- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU PENICILLOYL G TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu PENICILLOYL G được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu PENICILLOYL G chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL G đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### *2.1. Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### *2.2. Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL G có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL G quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL G, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L      | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|-----------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10    | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34 | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69 | Thấp                              |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU PENICILLOYL V TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu PENICILLOYL V được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu PENICILLOYL V chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL V đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hóa phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL V có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL V quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu PENICILLOYL V, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L      | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|-----------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10    | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34 | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69 | Thấp                              |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU QUẢ KIWI TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu quả kiwi (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu quả kiwi (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu quả kiwi có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của



người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

#### *Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(-25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu quả kiwi máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu quả kiwi máu. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu quả kiwi máu 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq$  200 mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq$  500 mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq$  3000 mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu quả kiwi không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu quả kiwi vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

# ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU SỮA DÊ TRONG MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu sữa dê được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu sữa dê chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu sữa dê đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### 2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### 2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu sữa dê có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu sữa dê quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu sữa dê, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU SỮA ĐUN SÔI TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu sữa đun sôi được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu sữa đun sôi chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu sữa đun sôi đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hóa phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### *2.1. Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### *2.2. Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu sữa đun sôi có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.



- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu sữa đun sôi quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu sữa đun sôi, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU SỮA TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu sữa được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu sữa chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu sữa đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### **2.2. Hóa chất**

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu sữa có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu sữa quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu sữa, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |
| IV  | 17.5–52.49 |                                   |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| V          | 52.5–99.99  | Rất cao                           |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

## **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU TÁO TRONG MÁU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu tảo (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu tảo (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu tảo có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

#### **2. Phương tiện, hóa chất**

##### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

##### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ôn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

#### *Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.



- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu tảo trong máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu tảo. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu tảo 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu táo không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu táo vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU THỊT BÒ TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu thịt bò (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu thịt bò (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu thịt bò có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của

người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2–8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

#### *Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(-25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu thịt bò máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu thịt bò. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu thịt bò 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu thịt bò không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu thịt bò vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU THỊT LỢN TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu thịt lợn (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu thịt lợn (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu thịt lợn có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm IMMULITE 2000
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

#### **2.2. Hóa chất:** IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh của người/không phải của



người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bề mặt trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2-8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ -20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phối tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2-8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

#### *Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2-8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.
- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang

- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu Enterotoxin A: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy 2 mL máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu không vỡ hồng cầu.

- Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Ly tâm mẫu ở 4000 vòng trong 5 phút, tách huyết thanh
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C, 3 năm ở (-15)-(25)°C
- Bệnh phẩm chỉ tan đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông. 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 định lượng IgE đặc hiệu thịt lợn máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IgE đặc hiệu thịt lợn. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IgE đặc hiệu thịt lợn 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;

+ Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;

+ Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ IgE đặc hiệu thịt lợn không vượt quá ngưỡng đo (theo máy). Nếu nồng độ IgE đặc hiệu thịt lợn vượt quá ngưỡng đo của máy thì 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 động tính toán).

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU TÔM TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

- IgE : Immunoglobulin E

## **I. NGUYÊN LÝ**

Immunoglobulin E (IgE) là một kháng thể được sản xuất bởi tương bào có vai trò quan trọng trong hệ thống miễn dịch bảo vệ cơ thể chống lại ký sinh trùng và các vật lạ xâm nhập cơ thể (dị nguyên). Định lượng IgE đặc hiệu tôm là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng dị ứng của cơ thể với dị nguyên là tôm.

IgE đặc hiệu tôm được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu tôm chia thành 2 chu kỳ:

Chu kỳ đầu: bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu tôm đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong bệnh phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;

Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme alkaline phosphatase được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cơ chất hóa phát quang có bản chất là dioxetane-phosphate sẽ phát quang khi gặp enzyme alkaline phosphatase. Cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp.

### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Phương tiện:

- + Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- + Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- + Tủ lạnh
- + Dụng cụ lấy máu: Bông cồn, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

- Hóa chất:

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu: chứa 30 mL enzyme alkaline phosphatase gắn với kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột, có chất bảo quản;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Dị nguyên đặc hiệu tôm kèm hộp Allergen Wedder có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích bệnh phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy bệnh phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Bệnh phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích bệnh phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho dị nguyên đặc hiệu tôm vào hộp Allergen Wedder, quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu tôm, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho các hạt có gắn anti-ligand vào khay bi trên máy;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa bệnh phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | ≥ 100       |                                   |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của bệnh phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU TOXOCARA CANIS TRONG MÁU**

## **Bảng viết tắt**

- IgE: Immunoglobulin E
- PXN: Phòng xét nghiệm

## **I. NGUYÊN LÝ**

Toxocara canis thuộc nhóm giun sán, bệnh nhiễm trùng ở người gây ra do ấu trùng, dạng trưởng thành của loài giun này ký sinh trong ruột của ký chủ họ chó mèo. Định lượng IgE đặc hiệu Toxocara canis là xét nghiệm nhằm xác định tình trạng nhiễm hoặc các bệnh do tác nhân này gây nên.

Nguyên lý xét nghiệm định lượng IgE đặc hiệu Toxocara canis (tiến hành trên máy IMMULITE 2000) dựa trên phương pháp miễn dịch hóa phát quang, hai bước, pha rắn, sử dụng động học pha lỏng dưới dạng hạt.

Pha rắn (hạt) được bọc bằng kháng thể kháng phôi tử. Pha lỏng chứa enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đệm huyết thanh người/không phải người.

Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu bệnh phẩm và dị nguyên đặc hiệu Toxocara canis (được đánh dấu phôi tử) được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong suốt thời gian này, IgE đặc hiệu trong mẫu gắn kết với dị nguyên được đánh dấu bằng phôi tử, sau đó gắn kết với kháng phôi tử trên hạt. Thành phần mẫu không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm.

Trong chu kỳ thứ hai, kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym được thêm vào ống phản ứng ban đầu để ủ thêm 30 phút nữa. Kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người liên hợp với enzym gắn kết với IgE cố định. Liên hợp enzym không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào ống phản ứng có chứa hạt và cường độ sáng phát ra tỷ lệ thuận với IgE đặc hiệu Toxocara canis có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

Chu kỳ ủ: 2 x 30 phút

Tổng thời gian xét nghiệm: 65 phút.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất**

- Máy máy phân tích tự động IMMULITE®2000 và một số máy khác
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...



- Hóa chất: IMMULITE® 2000 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit

*Thành phần bộ kit gồm có:*

- Gói hạt 3gAllergy™ Specific IgE (L2UN12): gồm 200 hạt, được bọc bằng kháng phôi tử. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 3 gói.
- Hộp thuốc thử 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNA6): Chứa 30 mL enzyme phosphatase kiềm (ruột bê) liên hợp với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IgE người trong chất nền dung dịch đậm huyết thanh của người/không phải của người, được phân phối đồng đều vào các buồng B và C. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Số lượng 1 hộp hình nêm.

Trước khi sử dụng, xé bỏ phần đầu của nhãn ở phần có các lỗ châm kim, mà không làm hỏng mã vạch. Bóc màng kim loại ra khỏi nắp hộp hình nêm; bẻ nắp trượt xuống vào trong các mặt nghiêng trên nắp thuốc thử.

- Chất điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNJ3, L2UNJ4): Hai lọ (nồng độ thấp và nồng độ cao), mỗi lọ 2,0 mL IgE của người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở - 20°C.

Trước khi thực hiện việc điều chỉnh, đặt các nhãn trên các ống ngay ngắn để đầu đọc mã vạch có thể quét mã vạch chính xác.

- Kháng thể điều chỉnh 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS1): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi thực hiện điều chỉnh.

- Chất chứng 3gAllergy™ Specific IgE Universal Kit (SPE) (L2UNC1, L2UNC2): Hai lọ, mỗi lọ 2 mL IgE người trong chất nền huyết thanh không phải của người, có chất bảo quản. Ổn định 30 ngày tại nhiệt độ 2-8°C sau khi mở nắp, hoặc sáu tháng (chiết vào các lọ nhỏ) ở nhiệt độ - 20°C.

Tham khảo thông tin tờ hướng dẫn sử dụng chất kiểm chuẩn đính kèm bộ thuốc thử để biết chính xác hai mức nồng độ. Trước khi dùng nhớ dán mã vạch ngay ngắn để đầu đọc mã vạch quét chính xác.

- Kháng thể chứng 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNS2): Hai ống, 2,75 mL chất lỏng mỗi ống, chứa kháng thể đa dòng của dê kháng IgE người được đánh dấu bằng phôi tử đã được chuẩn bị sẵn sàng để sử dụng. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Thuốc thử này được đặt trong hộp hình nêm chứa dị nguyên khi chạy chất kiểm chuẩn IMMULITE 2000 IgE.

*Thành phần của bộ kit được cung cấp riêng*

- Chất pha loãng mẫu 3gAllergy™ Specific IgE (L2UNZ): Để pha loãng các mẫu trên hệ thống. Một lọ, chất nền albumin huyết thanh người, đậm đặc (chuẩn bị

sẵn để sử dụng), có chất bảo quản. Bảo quản: 30 ngày (sau khi mở nắp) ở 2–8°C hoặc 6 tháng (được chiết vào các lọ nhỏ) ở -20°C. Thải bỏ phù hợp với pháp luật hiện hành.

- Nhãn mã vạch được cung cấp để sử dụng cùng với dung dịch pha loãng. Trước khi sử dụng, dán một nhãn phù hợp lên một ống nghiệm 16 × 100 mm, sao cho bộ đọc trên hệ thống có thể đọc được mã vạch.
- L2SUBM: Cơ chất hóa phát quang
- L2PWSM: Dung dịch rửa đầu dò
- L2KPM: Bộ dụng cụ làm sạch đầu dò
- LRXT: Ống phản ứng (dùng một lần)
- L2AW1-3: Hộp hình nêm chứa dị nguyên (được dán mã vạch)
- L2AW1, 400930-02: chứa mã (code) 1–33
- L2AW2, 400930-03: chứa mã (code) 34–66
- L2AW3, 400930-04: chứa mã (code) 67–99
- L2ATC: Nắp ống chứa dị nguyên
- L2ATS2: Miếng ngăn ống dị nguyên
- Các thuốc thử hiện có: MC6LCM, DC1LCM, DC2LCM, L2SNCCM: Chất chứng IgE đặc hiệu với dị nguyên nền huyết thanh người.
- Nước cất hoặc nước khử ion; ống nghiệm; các chất chứng
- Bảng dị nguyên hỗn hợp và các dị nguyên đặc hiệu *Toxocara canis*: Các dị nguyên riêng biệt được đóng gói thành module 20 xét nghiệm hoặc 40 xét nghiệm có thể tích 1,75 và 2,75 mL theo thứ tự.

Mỗi ống dị nguyên chứa dị nguyên đặc hiệu hoặc một hỗn hợp các dị nguyên trong chất nền dung dịch có đệm protein, có chất bảo quản.

Không được đông đá, Bảo quản trong tủ lạnh: ổn định ở 2-8°C cho đến hạn sử dụng ghi trên lọ hoặc 90 ngày trên máy. Không sử dụng khi có dấu hiệu nhiễm vi sinh chẳng hạn như khi quan sát thấy có màu đục.

Các dị nguyên riêng biệt và bảng dị nguyên hỗn hợp được dùng với hệ thống phân tích IMMULITE 2000.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Huyết thanh được khuyến cáo sử dụng cho xét nghiệm này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Sử dụng máy siêu ly tâm để loại bỏ thành phần lipid trong mẫu bệnh phẩm có tăng lipid.
- Từ chối nhận các mẫu tiêu huyết. Chờ cục máu đông hoàn toàn nếu không sẽ có sự tạo thành fibrin. Trường hợp người bệnh dùng thuốc kháng đông phải chờ máu đông lâu hơn.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Thể tích mẫu quy định: 50 uL huyết thanh
- Bảo quản bệnh phẩm: ở 2-8°C được 7 ngày, ở -20°C được 06 tháng.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật**

Các trang thiết bị phải được định kỳ kiểm tra độ chính xác, bảo dưỡng.

- Kiểm tra hạn dùng và điều kiện bảo quản hóa chất, chất chứng.
- Các nhân viên có kinh nghiệm của PXN chịu trách nhiệm đánh giá năng lực của người thực hiện qui trình này (kiểm tra, quan sát việc thực hiện qui trình)
- Chạy chất chứng mỗi khi chạy mẫu bệnh phẩm.
- Kết quả chất chứng phải được ghi trong nhật ký theo dõi chất chứng
- Chọn một vị trí mở trên băng chuyên thuốc thử thông qua phần mềm.
- Thay thế nắp ống dị nguyên với miếng ngăn. Không được đảo ngược ống dị nguyên khi gắn miếng ngăn.
- Đặt ống dị nguyên có chứa dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin, băng dị nguyên đặc hiệu, kháng thể điều chỉnh IgE đặc hiệu, và/hoặc kháng thể kiểm chuẩn IgE đặc hiệu của IMMULITE 2000 vào hộp hình nêm chứa dị nguyên, với mã vạch hướng vào mặt mở của hộp hình nêm.
- Đóng hộp hình nêm lại và quét mã vạch của dị nguyên bằng máy quét.
- Khi việc quét hoàn tất, nạp hộp hình nêm chứa dị nguyên vào băng chuyên thuốc thử.
- Lặp lại quy trình này để nạp hộp hình nêm chứa dị nguyên tiếp theo.
- Hộp hình nêm chứa dị nguyên phải được quét trước khi gắn vào thiết bị để đảm bảo vận hành thiết bị chính xác. Việc loại bỏ hoặc thay thế bất kỳ lọ nào trong hộp hình nêm chứa dị nguyên sẽ yêu cầu quét lại hộp hình nêm với máy quét mã vạch để cập nhật thông tin dị nguyên.

- Khoảng thời gian giữa các lần điều chỉnh được khuyến nghị: 2 tuần
- Các mẫu kiểm soát chất lượng: để theo dõi việc điều chỉnh, sử dụng chất kiểm chuẩn được cung cấp với bộ dụng cụ. Chất kiểm chuẩn dị nguyên đặc hiệu alpha - lactalbumin có sẵn.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

❖ *Hệ thống phân loại tiêu chuẩn:*

| Nhóm | KU/L         | Phản ứng với các dị nguyên/ riêng trong bảng |
|------|--------------|----------------------------------------------|
| 0    | < 0,10       | Không có hoặc không phát hiện được           |
|      | 0,1 - 0,34   | Rất thấp                                     |
| I    | 0,35 - 0,69  | Thấp                                         |
| II   | 0,70 - 3,49  | Vừa                                          |
| III  | 3,50 - 17,49 | Cao                                          |
| IV   | 17,5 - 52,49 | Rất cao                                      |
| V    | 52,5 - 99,9  |                                              |
| VI   | >100         |                                              |

#### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU TRÚNG TRONG MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu trướng được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu trướng chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu trướng đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### 2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### 2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu trướng có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu trứng quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu trứng, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| IV         | 17.5–52.49  | Rất cao                           |
| V          | 52.5–99.99  |                                   |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
  - + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
  - + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
  - + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU VANILLA TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu Vanilla được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu Vanilla chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu Vanilla đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## **II. CHUẨN BỊ**

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### *2.1. Phương tiện*

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### *2.2. Hóa chất*

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu Vanilla có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.



- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu Vanilla quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu Vanilla, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| 0          | < 0.10      | Không có hoặc không thể phát hiện |
|            | 0.10–0.34   | Rất thấp                          |
| I          | 0.35–0.69   | Thấp                              |
| II         | 0.70–3.49   | Vừa phải                          |
| III        | 3.50–17.49  | Cao                               |
| IV         | 17.5–52.49  |                                   |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| V          | 52.5–99.99  | Rất cao                           |
| VI         | $\geq 100$  |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ HƯỚNG XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# ĐỊNH LƯỢNG IgE ĐẶC HIỆU XOÀI TRONG MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

IgE là một globulin miễn dịch có vai trò quan trọng trong miễn dịch với ký sinh trùng như giun sán... Ngoài ra nó còn có vai trò trong các quá trình dị ứng của cơ thể như phản vệ và một số bệnh dị ứng như hen, viêm mũi dị ứng...

IgE đặc hiệu xoài được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Quy trình xét nghiệm IgE đặc hiệu xoài chia thành 2 chu kỳ:

- Chu kỳ đầu: nghiệm phẩm và dị nguyên đặc hiệu xoài đã đánh dấu ligand được ủ với hạt gắn với anti-ligand trong 30 phút. IgE đặc hiệu trong nghiệm phẩm gắn với các dị nguyên, sau đó phức hợp này liên kết với anti-ligand trên hạt. Các thành phần không gắn kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm;
- Chu kỳ thứ hai: kháng thể đơn dòng kháng IgE từ chuột gắn với enzyme xúc tác được ủ với phức hợp trên trong 30 phút. Kháng thể này sẽ kết hợp với IgE đã cố định trên hạt, các thành phần không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Khi gặp enzyme, cơ chất hoá phát quang sẽ phát quang, cường độ phát quang tỉ lệ thuận với nồng độ IgE.

## II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

**2. Phương tiện, hóa chất**

### 2.1. Phương tiện

- Máy xét nghiệm: IMMULITE 2000, Beckman Access, Cobas e411, ...
- Máy ly tâm có tốc độ vòng quay 3000-5000 vòng/phút
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay...

### 2.2. Hóa chất

- + Gói hạt có gắn anti-ligand;
- + Hộp thuốc thử IgE đặc hiệu;
- + Chất chuẩn: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ (thấp và cao);
- + Mẫu nội kiểm: kháng thể IgE có nguồn gốc từ người, 2 mức nồng độ;
- + Hộp dị nguyên đặc hiệu xoài có mã vạch;
- + Cơ chất hóa phát quang.

Chú ý: sử dụng nước cất hoặc nước khử ion khi phân tích nghiệm phẩm; bảo quản hóa chất ở 2-8°C, nơi khô thoáng, tránh ánh sáng mặt trời.

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIỀN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông, đảm bảo mẫu máu không bị vỡ hồng cầu;
- Sau khi lấy nghiệm phẩm, đem ly tâm tách huyết thanh, nên tiến hành phân tích trong vòng 2 giờ để tránh hiện tượng bay hơi;
- Nghiệm phẩm có thể được bảo quản 7 ngày ở 2-8°C, 6 tháng ở -20°C;
- Nghiệm phẩm chỉ rã đông 1 lần và đảm bảo ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần được chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích nghiệm phẩm cụ thể:
  - + Cài đặt chương trình xét nghiệm IgE đặc hiệu;
  - + Cho hộp dị nguyên đặc hiệu xoài quét mã vạch, đặt vào khay thuốc thử trong máy;
  - + Chạy hiệu chuẩn và xây dựng đường chuẩn;
  - + Chạy nội kiểm dị nguyên đặc hiệu xoài, đảm bảo kết quả nội kiểm đạt yêu cầu;
  - + Cho cơ chất hóa phát quang vào đúng vị trí trên máy.
- Nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có);
- Cho ống nghiệm có chứa nghiệm phẩm vào giá mẫu thử, sau đó đặt giá này vào khay mẫu trên máy;
- Thực hiện các bước thao tác trên máy theo hướng dẫn sử dụng;
- Khi có kết quả, cần xem xét đánh giá kết quả, sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu trả kết quả xét nghiệm để trả cho người bệnh hoặc bác sĩ lâm sàng.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Hệ thống phân loại tiêu chuẩn sử dụng các ngưỡng theo nhóm:

| Mức | kU/L       | Mức phản ứng với dị nguyên        |
|-----|------------|-----------------------------------|
| 0   | < 0.10     | Không có hoặc không thể phát hiện |
|     | 0.10–0.34  | Rất thấp                          |
| I   | 0.35–0.69  | Thấp                              |
| II  | 0.70–3.49  | Vừa phải                          |
| III | 3.50–17.49 | Cao                               |
| IV  | 17.5–52.49 |                                   |

| <i>Mức</i> | <i>kU/L</i> | <i>Mức phản ứng với dị nguyên</i> |
|------------|-------------|-----------------------------------|
| V          | 52.5–99.99  | Rất cao                           |
| VI         | ≥ 100       |                                   |

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
- + Nồng độ bilirubin  $\leq 200$  mg/L;
- + Nồng độ hemoglobin  $\leq 500$  mg/dL;
- + Nồng độ triglycerid  $\leq 3000$  mg/dL.
- Nếu vượt quá ngưỡng trên, tùy thuộc vào nồng độ của nghiệm phẩm có thể pha loãng với tỉ lệ thích hợp để thực hiện lại xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG IGF (INSULIN LIKE GROWTH FACTOR-1) TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IGF (Insulin-like growth factors) (các yếu tố sinh trưởng tương tự insulin) là các polypeptide tương tự insulin. IGFs (IGF system) là một phần trong hệ thống phức tạp qua đó tế bào trao đổi thông tin với môi trường xung quanh. Hệ thống này bao gồm hai receptor bề mặt của IGF được gọi là IGF1R và IGF2R, hai cơ chất (ligand) IGF-I và IGF-II, một nhóm gồm các protein kết hợp với IGF (IGF binding protein: IGFBP 1-6) và các enzyme có tác dụng phân giải IGFBP (các protease). IGF-1 là tên viết tắt của yếu tố tăng trưởng giống Insulin-1 (Insulin-like Growth Factor -1), còn được gọi là Somatomedin-C, là một peptid có trọng lượng phân tử khoảng 7649 Dalton, gồm 70 acid amin trong một chuỗi duy nhất với ba cầu disulfide nội phân tử, có cấu trúc giống insulin, được mã hóa bởi gene IGF-1. IGF-1 được tổng hợp chủ yếu bởi gan dưới sự điều hòa của hormone tăng trưởng (GH) của tuyến yên. IGF-1 cũng còn được tổng hợp bởi một vài mô khác dưới sự điều hòa bởi GH và một số chất điều biến (modulators) khác. Vai trò chủ yếu của IGF-1 là thúc đẩy phân bào (mitosis) và biệt hóa (differentiation) của tế bào ở các mô khác nhau.

Nguyên lý định lượng IGF-1: miễn dịch hóa phát quang trực tiếp

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động.

### **2. Phương tiện hóa chất**

- Máy miễn dịch tự động: Immulite 1000, Liaison,...
- Máy ly tâm,
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng.
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, ống sample cup.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và ngày giờ lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như lithium heparin, EDTA,...
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Bệnh phẩm được tách huyết thanh, huyết tương để ổn định 2-8°C trong 2 ngày hoặc 3 tháng ở -20°C

#### 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 IGF1. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IGF1. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IGF1 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

Định lượng IGF-1 giúp chẩn đoán nguyên nhân của những bất thường về tăng trưởng, để đánh giá chức năng tuyến yên và theo dõi điều trị chứng thiếu hụt hoặc tổng hợp quá mức GH. IGF-1 cũng có thể được sử dụng cùng với một số xét nghiệm hormon tuyến yên khác, chẳng hạn như hormon kích vỏ thượng thận (ACTH) để giúp chẩn đoán suy tuyến yên. IGF-1 còn có thể được sử dụng để theo dõi hiệu quả điều trị thiếu hụt GH hoặc hội chứng không nhạy cảm với GH (Growth hormone insensitivity syndrome). Việc định lượng IGF-1 thường cùng với xét nghiệm GH và ACTH. Nồng độ IGF-1 trong huyết tương người khỏe mạnh phụ thuộc vào tuổi và giới

#### 4.1. Khoảng tham chiếu

Ở người khỏe mạnh nồng độ IGF1 trong huyết tương.

| Tuổi             | Nam (ng/mL) | Nữ (ng/mL) |
|------------------|-------------|------------|
| 2 tháng - 5 tuổi | 17-248      | 17-248     |
| 6 - 8 tuổi       | 88-474      | 88-474     |
| 9 – 11 tuổi      | 110-565     | 117-771    |

|              |         |          |
|--------------|---------|----------|
| 12 - 15 tuổi | 202-957 | 261-1096 |
| 16 - 24 tuổi | 182-780 | 182-780  |
| 25 - 39 tuổi | 114-492 | 114-492  |
| 40 - 54 tuổi | 90-360  | 90-360   |
| >55 tuổi     | 71-290  | 71-290   |

#### **4.2. IGF-1 tăng trong các trường hợp:**

- Khi nồng độ IGF-1 tăng là biểu hiện sự sản xuất GH tăng. Nồng độ IGF-1 biểu thị trị số trung bình của GH trong ngày, đó không phải là số lượng thực của GH trong máu tại thời điểm mà các mẫu xét nghiệm IGF-1 được thực hiện. GH sẽ kích thích khả năng sản xuất IGF-1 của gan, mức độ IGF-1 sẽ ổn định ở một nồng độ tăng tối đa.
- GH và IGF-1 còn tăng cao ở tuổi dậy thì và phụ nữ khi mang thai. Nhưng nếu tăng ở tuổi khác thì gợi ý một u tuyến yên
- Nếu IGF-1 vẫn cao sau phẫu thuật cắt bỏ khối u tuyến yên thì có thể khối u chưa được loại bỏ hoàn toàn.
- Giúp ích cho theo dõi kết quả điều trị: nồng độ IGF-1 giảm về mức độ bình thường trong giai đoạn xạ trị và/ hoặc hóa trị liệu cho thấy việc điều trị có hiệu quả. Mức độ IGF-1 tăng trở lại chỉ ra sự tái phát của khối u tuyến yên.

#### **4.3. IGF-1 giảm trong các trường hợp:**

- IGF-1 giảm trong thiếu hụt GH hoặc hội chứng không nhạy cảm với GH. Ở trẻ em, sự thiếu hụt GH có thể làm trẻ thấp bé, phát triển chậm. Ở người lớn, sự thiếu hụt GH làm giảm khả năng sinh sản, nồng độ thấp của IGF-1 phản ánh sự thiếu hụt GH hoặc hội chứng không nhạy cảm với GH.
- Sự giảm của IGF-1 có thể do sự suy giảm chức năng tuyến yên, trong tình trạng này, cần chỉ định thêm một số hormone khác của tuyến yên như hormone kích vỏ thượng thận (ACTH) để có thể đánh giá mức độ suy tuyến yên, từ đó có hướng điều trị bổ sung GH. Sự giảm chức năng tuyến yên có thể là do khuyết tật di truyền hoặc do tổn thương tuyến yên sau chấn thương, nhiễm khuẩn hoặc viêm.
- IGF-1 có thể giảm trong tình trạng thiếu hụt dinh dưỡng (bao gồm chán ăn tâm thần), suy thận mạn hoặc bệnh gan, trong tình trạng không hoạt động hoặc hoạt động không hiệu quả của GH hoặc khi sử dụng estrogen liều cao.

### **V. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác



# **ĐỊNH LƯỢNG IgG DƯỚI NHÓM TRONG MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

IgG dưới nhóm được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục.

Nguyên lý: cho mẫu bệnh phẩm vào dung dịch chứa kháng thể phù hợp trong một cuvette phản ứng. Một chùm ánh sáng được đi qua cuvette và vì quá trình phản ứng kháng nguyên - kháng thể ánh sáng đi qua cuvette bị tán xạ do phức hợp miễn dịch không hoà tan được tạo thành. Lượng kháng thể trong cuvette dư thừa, vì vậy lượng phức hợp miễn dịch được tạo thành tương ứng với nồng độ kháng nguyên. Trong đo độ đục, ánh sáng tán xạ được theo dõi bằng cách đo sự giảm cường độ tia tới của ánh sáng. Đầu tiên, tiến hành xét nghiệm với 6 chuẩn đã biết trước nồng độ kháng nguyên để tạo đường cong chuẩn từ ánh sáng tán xạ đo được so với nồng độ kháng nguyên. Sau đó tiến hành xét nghiệm với các bệnh phẩm và kết quả được đọc dựa vào đường cong chuẩn.

Kháng thể gắn latex: Một số phản ứng kháng nguyên- kháng thể không tạo thành phức hợp miễn dịch đủ lớn để phát hiện bằng đo độ đục. Nếu kháng thể được bao phủ trên hạt latex có kích thước phù hợp, khả năng phân tán ánh sáng của phức hợp miễn dịch được tạo thành với kháng nguyên được làm tăng lên đủ để có thể phát hiện bằng đo độ đục.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Nhân viên thực hiện xét nghiệm có trình độ phù hợp.

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy sinh hóa tự động
- Máy ly tâm

#### **2.2. Hoá chất :**

- Kít định lượng IgG subclass
- Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC 2 mức)
- Nước cất

### **3. Người bệnh:**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm:

- Huyết thanh tươi hoặc huyết thanh đông lạnh.
- Bảo quản: IgG dưới nhóm trong huyết thanh ổn định được tới 8 ngày ở 2-8°C hoặc bệnh phẩm không pha loãng bảo quản được thời gian dài ở nhiệt độ - 20°C hoặc thấp hơn.
- Không sử dụng huyết thanh bị nhiễm vi khuẩn, huyết thanh tan huyết và mỡ máu cao.
- Tránh rã đông nhiều lần.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật:

- Chuẩn bị máy sinh hóa tự động: chuẩn xét nghiệm (nếu cần) và tiến hành nội kiểm tra chất lượng (chạy QC) cho xét nghiệm IgG dưới nhóm.
- Nhận mẫu bệnh phẩm từ các khoa lâm sàng.
- Ly tâm mẫu bệnh phẩm trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/phút.
- ống bệnh phẩm đã được ly tâm đưa vào máy phân tích.
- Vận hành máy theo quy trình vận hành máy.
- Duyệt kết quả
- Kiểm soát chất lượng:

*Hàng ngày* : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.

*Định kỳ* : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

#### Giá trị tham chiếu:

|                      |             |                      |
|----------------------|-------------|----------------------|
| Người lớn :          | IgG1        | 3824 – 9286 mg/L     |
|                      | IgG2 :      | 2418 – 7003 mg/L     |
|                      | IgG3 :      | 218,2 – 1760, 6 mg/L |
|                      | IgG4 :      | 39,2 – 864,0 mg/L    |
| Trẻ em : 0 – 2 tuổi: | IgG1        | 1940 – 8420 mg/L     |
|                      | IgG2 :      | 225 – 3000 mg/L      |
|                      | IgG3 :      | 186 – 853 mg/L       |
|                      | IgG4 :      | 5 – 784,0 mg/L       |
|                      | IgG total : | 3270 – 12700 mg/L    |
| 2 – 4 tuổi:          | IgG1        | 3150 – 9450 mg/L     |

|                |             |                   |
|----------------|-------------|-------------------|
|                | IgG2 :      | 360 – 2250 mg/L   |
|                | IgG3 :      | 173 – 676 mg/L    |
|                | IgG4 :      | 10 – 537 mg/L     |
|                | IgG total : | 4680 – 12500 mg/L |
| 4 – 8 tuổi :   | IgG1        | 3060 – 9450 mg/L  |
|                | IgG2 :      | 605 – 3450 mg/L   |
|                | IgG3 :      | 99 – 1221 mg/L    |
|                | IgG4 :      | 18 – 1125 mg/L    |
|                | IgG total : | 5320 – 13400 mg/L |
| 6 – 8 tuổi :   | IgG1        | 2880 – 9180 mg/L  |
|                | IgG2 :      | 440 – 3750 mg/L   |
|                | IgG3 :      | 155 – 853 mg/L    |
|                | IgG4 :      | 4 – 992 mg/L      |
|                | IgG total : | 4540 – 13600 mg/L |
| 8 – 10 tuổi :  | IgG1        | 4320 – 10200 mg/L |
|                | IgG2 :      | 720 – 4300 mg/L   |
|                | IgG3 :      | 127 – 853 mg/L    |
|                | IgG4 :      | 19 – 932 mg/L     |
|                | IgG total : | 5680 – 13600 mg/L |
| 10 – 12 tuổi : | IgG1        | 4230 – 10600 mg/L |
|                | IgG2 :      | 760 – 3550 mg/L   |
|                | IgG3 :      | 173 – 1730 mg/L   |
|                | IgG4 :      | 16 – 1150 mg/L    |
|                | IgG total : | 5680 – 14900 mg/L |
| 12 – 14 tuổi : | IgG1        | 3420 – 11500 mg/L |
|                | IgG2 :      | 1000 – 4550 mg/L  |
|                | IgG3 :      | 283 – 1250 mg/L   |
|                | IgG4 :      | 37 – 1360 mg/L    |
|                | IgG total : | 6640 – 14900 mg/L |
| 14 – 18 tuổi : | IgG1        | 3150 – 8550 mg/L  |
|                | IgG2 :      | 640 – 4950 mg/L   |
|                | IgG3 :      | 230 – 1960 mg/L   |
|                | IgG4 :      | 110 – 1570 mg/L   |
|                | IgG total : | 5500 – 14400 mg/L |

**Ý nghĩa lâm sàng:**

- Ở người lớn bình thường, IgG chiếm khoảng 75% tổng immunoglobulin trong huyết thanh. Trong các phân nhóm IgG, thứ tự bình thường của nồng độ 4 phân nhóm là  $IgG1 > IgG2 > IgG3 > IgG4$ , nhưng nồng độ thực sự của mỗi IgG subclass có thể khác nhau đáng kể giữa các cá nhân.
- 4 phân nhóm IgG thể hiện sự khác nhau đáng kể trong các đặc tính của chúng, bao gồm khả năng cố định kháng thể, kết hợp với đại thực bào và qua nhau thai.
- Mức bất thường của 1 hoặc nhiều phân nhóm có thể liên quan với những điều kiện bệnh lý nhất định, bao gồm quá mẫn, tự miễn và bệnh gut cũng như thiếu hoặc cường gammaglobulin máu. Giảm nồng độ IgG2 ở trẻ em liên quan với nhiễm khuẩn tái diễn

**IV. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.**

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

## **ĐỊNH LƯỢNG IL2R (interleukin 2 receptor ) MÁU**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Thụ thể IL-2 đóng một vai trò quan trọng trong phản ứng miễn dịch. Thụ thể IL2 gắn kết với IL-2 trên bề mặt tế bào lympho T tạo ra một loạt các phản ứng nội bào dẫn đến sự kích hoạt và tăng sinh của tế bào T.

IL-2R được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp .

#### **2. Phương tiện, hóa chất:**

- Máy móc: Immulite
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng IL-2R, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng IL-2R.

#### **3. Người bệnh:**

Người bệnh và người nhà cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm:**

- Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (với chất chống đông EDTA).
- Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay có chất chống đông theo quy định tùy mục đích muốn thu được huyết thanh hay huyết tương.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh, huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 2 ngày ở 2-8°C, nếu bảo quản lâu hơn phải bảo quản ở -20°C.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật:**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm IL-2R. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm IL-2R. Kết

quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm IL-2R 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).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Giá trị tham chiếu:

223 - 391 - 710 U/mL

Mức độ IL-2R tăng cao đáng kể trong các trường hợp bệnh lý như ung thư, bệnh tự miễn dịch, ghép nội tạng và các nhiễm trùng khác nhau.

#### **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Lấy máu không đúng kỹ thuật như gây vỡ hồng cầu. Khắc phục: Huấn luyện cán bộ có kỹ năng lấy máu thuần thục.
- Bệnh phẩm để lâu mới phân tích. Khắc phục: Nên xét nghiệm ngay sau khi bệnh phẩm được gửi đến phòng xét nghiệm.

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Mẫu vỡ hồng cầu với lượng Hemoglobin đến 384 mg/dL, triglycerid đến 3000 mg/mL, Bilirubin đến 200mg/L không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Không có hiệu ứng Hight-dose Hook khi IL-2R đến 225 000U/mL

# ĐỊNH LƯỢNG INHIBIN A TRONG MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

Inhibin là hormon được tế bào Sertoli (nam), tế bào trứng (nữ) tiết ra.

Inhibin có bản chất là glycoprotein, tan được trong nước. Cấu tạo gồm 2 phân tử alpha và beta gắn với nhau. Inhibin chia làm 2 loại A và B. Tế bào Sertoli của nam chỉ tiết loại B, tế bào trứng của nữ tiết cả 2 loại, trong giai đoạn mang thai chỉ tiết loại A. Tác dụng: làm giảm FSH, ức chế sản sinh tinh trùng ở nam, ức chế quá trình chín của trứng ở nữ. Đặc biệt trong giai đoạn mang thai, inhibin A tăng cao là biểu hiện của tế bào thai nhi bị hội chứng Down.

Nồng độ inhibin A trong máu được làm cùng AFP, hCG, uE3 trong khoảng thời gian từ tuần thứ 15 đến 20 thai kỳ

Nguyên lý miễn dịch sandwich

Kháng nguyên trong bệnh phẩm được ủ với các hạt từ có gắn kháng thể đơn dòng kháng Inhibin A. Thuốc thử và kháng nguyên thừa được rửa bỏ. Kháng thể đơn dòng kháng Inhibin A kết hợp với phosphatase kiềm nhằm phát hiện Inhibin A gắn với các hạt từ. Các thành phần pha rắn được giữ lại trong từ trường trong khi các thành phần khác sẽ được rửa trôi. Lumi-Phos 530 được thêm vào. Ánh sáng tạo ra bởi phản ứng được đo bởi bộ phận đo quang. Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ thuận với nồng độ Inhibin A trong mẫu. Lượng chất cần phân tích trong mẫu được xác định dựa trên đường cong chuẩn nhiều điểm đã được lưu trên máy.

## II. CHUẨN BỊ

**1. Người thực hiện:** 1 người có trình độ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả; 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

**2. Phương tiện và hóa chất:**

**2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm miễn dịch tự động như: Access, Access 2, SYNCHRON Lxi, UniCel DxC 600i của hãng Beckman Coulter, ....
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

**2.2. Hóa chất:** thường đi theo hệ thống máy của các công ty VD hóa chất Access Inhibin A của Beckman Coulter

- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng, dung dịch hệ thống của Beckman Coulter

**3. Người bệnh:**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

**4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm:

Mẫu bệnh phẩm có thể là huyết thanh hoặc huyết tương (chống đông bằng EDTA hoặc Heparin). Lấy 3 ml máu tĩnh mạch. Ly tâm 3000 vòng/ phút trong 5 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương ngay khi có thể. Bệnh phẩm bảo quản ở nhiệt độ phòng (luôn đầy nắp) (15-30°C) không quá 8h; 48h ở 2-8 °C; >48h ở -20 °C. Chỉ rã đông 1 lần duy nhất. Tránh xét nghiệm các mẫu nhiễm mỡ và vỡ hồng cầu.

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG: việc thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 3 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

#### 1. Khoảng tham chiếu:

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh. Kết hợp với AFP, hCG, uE3, tuổi thai phụ để nhận định kết quả

| Quần thể<br>Phụ nữ có chu kì kinh<br>bình thường<br>(từ thời điểm LH<br>tăng): | n   | Trung vị<br>(pg/mL) | Cận dưới<br>2,5%<br>(pg/mL) | Cận trên<br>97,5%<br>(pg/mL) |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----|---------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Pha sớm của nang noãn<br>(ngày -14 tới -10)                                    | 211 | 6,4                 | 1,8                         | 17,3                         |
| Pha giữa của nang noãn<br>(ngày -9 tới -4)                                     | 264 | 11,7                | 3,5                         | 31,7                         |
| Pha muộn của nang<br>noãn (ngày -3 tới -1)                                     | 121 | 29,0                | 9,8                         | 90,3                         |



|                                                   |     |      |       |      |
|---------------------------------------------------|-----|------|-------|------|
| Giữa chu kỳ kinh<br>(ngày 0, LH tăng đột<br>biến) | 96  | 41,8 | 16,9  | 91,8 |
| Pha sớm của hoàng thể<br>(ngày 1 tới 3)           | 122 | 43,7 | 16,1  | 97,5 |
| Pha giữa của hoàng thể<br>(ngày 4 tới 11)         | 344 | 38,3 | 3,9   | 87,7 |
| Pha muộn của hoàng<br>thể (ngày 12 tới 14)        | 138 | 12,5 | 2,7   | 47,1 |
| <b>Phụ nữ sau mãn kinh</b>                        | 58  | 1,1  | < 1,0 | 2,1  |
| <b>Nam giới</b>                                   | 67  | 1,1  | < 1,0 | 2,0  |

#### **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

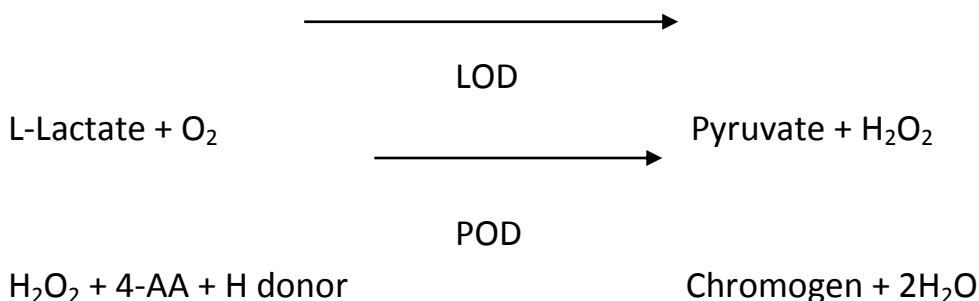
- Giới hạn phát hiện xấp xỉ 1-1500 pg/mL. Nếu nồng độ của mẫu > 1500 pg/mL thì pha loãng bệnh phẩm với Access Sample Diluent A.
- Các mẫu lấy trong thời điểm 27-40 tuần tuổi thai thể hiện sự pha loãng không tuyến tính

# ĐỊNH LƯỢNG LACTAT DỊCH NÃO TỦY

## I. NGUYÊN LÝ

Lactat là sản phẩm của quá trình chuyển hóa tế bào. Tùy thuộc vào pH, đôi khi nó tồn tại dưới dạng acid lactic. Tuy nhiên, với độ pH trung tính được duy trì bởi cơ thể, hầu hết nó sẽ có trong máu dưới dạng lactate. Thông thường nồng độ lactate máu và dịch não tủy thấp, nó được sản xuất quá mức bởi các tế bào cơ, não, hồng cầu và các mô khác khi tế bào không có đủ oxy.

Lactat bị oxi hóa bởi lactate oxidase (LOD) tạo thành pyruvate và hydrogen peroxide. Một sản phẩm màu được tạo ra bởi phản ứng của peroxidase (POD), hydrogen peroxidase, 4- aminoantipyrine và chất hydrogen donor (TOOS). Sản phẩm màu được đo bằng máy đo quang. Độ đậm màu tỉ lệ với nồng độ Lactate có trong bệnh phẩm



## 2. Phương tiện, hóa chất

### 2.1. Phương tiện:

- + Máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU2700
- + Máy ly tâm

### 2.2. Hóa chất:

- Hóa chất làm xét nghiệm Lactat (hãng Olympus )
- Huyết thanh kiểm tra mức 1 (Lyphocheck)
- Huyết thanh kiểm tra mức 2 (Lyphocheck)
- Huyết thanh chuẩn
- Nước cất

## 3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy bệnh phẩm làm xét nghiệm.

## 4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

- **Dịch não tủy** : Lấy trong ống chứa chất natri florua hoặc kali oxalat. Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ở 2-8°C.

#### 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 định lượng lactate dịch não tủy. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm lactate dịch não tủy. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm lactate dịch não tủy 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham chiếu của lactate dịch não tủy.

- dịch não tủy

Trẻ sơ sinh : 1,1 – 6,7 mmol/L (10 – 60 mg/dL)

Trẻ 3-10 ngày : 1,1 - 4,4 mmol/L (10- 40 mg/dL)

Trẻ trên 10 ngày : 1,1 – 2,8 mmol/L (10- 25 mg/dL)

Người lớn : 1,1 – 2,4 mmol/L (10 – 22 mg/dL)

- Ở các người bệnh có triệu chứng của viêm màng não, xét nghiệm lactate dịch não tủy tăng cao giúp gợi ý viêm màng não do vi khuẩn, trong khi lactat dịch não tủy bình thường hoặc tăng nhẹ ở người bệnh viêm màng não do virus.

### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Nồng độ Ascorbate  $\leq$  10 mg/dL

- Không có hiệu ứng “high-dose hook” (hiệu ứng mẫu người bệnh có nồng độ cao) khi nồng độ lactat không vượt quá ngưỡng đo (13,32 mmol/L). Nếu nồng độ lactat vượt quá 13,32 mmol/L thì 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 động tính toán).

# **ĐỊNH LƯỢNG LBP MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

LBP được định lượng bằng kỹ thuật miễn dịch hoá phát quang

Nguyên lý: Pha rắn (hạt phủ kháng thể đơn dòng kháng LBP) được trộn với thuốc thử chứa kháng thể đa dòng kháng LBP liên hợp với ALP và mẫu bệnh phẩm. LBP có mặt trong mẫu bệnh phẩm kết hợp với kháng thể đặc hiệu của pha rắn và kháng thể có trong thuốc thử tạo thành phức hợp dạng bánh mì kẹp chứa kháng thể-LBP- kháng thể trên hạt. Phức hợp này bám vào các hạt đã được gắn alkaline phosphatase. Sau khi các kháng thể liên hợp enzym được loại bỏ bằng rửa ly tâm, cơ chất phát quang được thêm vào. Tín hiệu tạo ra tỷ lệ thuận với lượng kháng thể liên hợp enzyme gắn hay nói cách khác là với nồng độ LBP có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Nhân viên thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp.

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Hệ thống máy miễn dịch tự động.
- Máy ly tâm

#### **2.2. Hoá chất**

- Thuốc thử LBP
- Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC 1,2)
- Nước cất

**3. Người bệnh:** Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm:**

- Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (không sử dụng huyết tương chống đông EDTA).
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.
- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.

- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 2 ngày.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

## **2. Tiến hành kỹ thuật:**

- Ly tâm ống máu trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.
- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy miễn dịch IMMULITE 2000.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:

*Hàng ngày* : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.

*Định kỳ* : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Giá trị tham chiếu:**

Giá trị tham chiếu: Người trưởng thành từ 2,2 µg/mL đến 11,4 µg/mL.

### **2. Ý nghĩa lâm sàng:**

Các nội độc tố (lipopolysaccharide và lipooligosaccharide; LPS và LOS) sản sinh bởi vi khuẩn gram âm là đại diện cho các chất có khả năng kích hoạt phản ứng viêm, kích thích sản sinh các cytokine gây viêm (ví dụ, IL-6, TNF, IL-8) bởi bạch cầu đơn nhân, tế bào màng trong, bạch cầu hạt và tế bào lympho. Khả năng nhận ra LPS bởi các tế bào tác động được tăng thêm nhiều thông qua chức năng của protein liên kết với lipopolysaccharide (LBP), một dạng protein pha cấp tính liên kết và hút nội độc tố về bề mặt của những tế bào này. LBP có liên quan về mặt kết cấu với protein làm tăng tính diệt khuẩn/khả năng thẩm thấu (BPI), một glycoprotein được sản sinh ở dạng hạt ưa azua của bạch cầu hạt có khả năng diệt vi khuẩn và trung hòa cũng như loại bỏ các nội độc tố. Do đóng vai trò trọng yếu trong giai đoạn đầu khi phản ứng trước vi khuẩn và nội độc tố, nồng độ của LBP trong huyết tương đã được nghiên cứu ở rất nhiều tập hợp người. Ở những người bình thường, LBP có mặt trong huyết tương với nồng độ từ 2 đến 10 µg/mL. Trong một số tập hợp người bệnh, nồng độ LBP có thể vượt 100 µg/mL và có thể duy trì trong vài ngày. Người ta đã ghi nhận nồng độ LBP trong huyết tương tăng cao ở những người bệnh mắc nhiễm khuẩn huyết, nhiễm trùng dạ dày, màng não cầu huyết, SIRS, viêm loét đại tràng, bệnh Crohn, hội chứng tan huyết urê huyết, và người bệnh có tim phổi nhân tạo. Tiêm nội độc tố vào những tình nguyện viên khỏe mạnh cũng làm tăng mức LBP, và quá trình lấy mẫu theo chiều dọc từ những người bệnh được phẫu thuật gan hoặc người bệnh bị xuất huyết do chấn thương cũng cho thấy mức LBP tăng cao trong vòng giờ đầu bị chấn thương. Nồng độ LBP có vẻ như không tăng ở những người bệnh mắc các chứng rối loạn viêm. Vì những lý do này, người ta đã cho rằng mức LBP có thể là

dấu hiệu của phơi nhiễm với vi khuẩn hoặc nội độc tố và tiên lượng về tiến triển bệnh, đồng thời có thể cung cấp một công cụ mới để theo dõi việc điều trị người bệnh và quản lý người bệnh về lâu dài.

#### **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.**

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

# **ĐỊNH LƯỢNG LITHIUM MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Lithium được sử dụng trong điều trị bệnh tâm thần hưng trầm cảm. Lithium tác động lên các chất dẫn truyền thần kinh và tạo ra tác dụng an thần trên hệ thống thần kinh trung ương. Mức lithium tăng có thể gây độc. Các triệu chứng ngộ độc bao gồm sự thờ ơ, chậm chạp, buồn ngủ, hôn mê, khó nói, run, suy nhược cơ, và thiếu máu. Liệu pháp lithi dài hạn có thể gây ra cường cận giáp ở một số người bệnh và làm tăng calci máu.

Lithium được định lượng bằng phương pháp so màu.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

- Người thực hiện cần có trình độ phù hợp.

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

#### **Phương tiện**

- Máy có thể phân tích: ARCHITECT C, COBAS C, AU...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyển mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

#### **Hoá chất**

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử định lượng Lithium: Khi chưa mở nắp, thuốc thử ổn định ở 2- 8 °C cho đến hết hạn sử dụng ghi trên hộp. Cần tránh ánh sáng. Thuốc thử đã mở nắp và để trên máy ổn định trong 18 ngày.
- Chất chuẩn
- Chất kiểm tra chất lượng.

### **3. Người bệnh:**

Người bệnh và người nhà người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

## **1.Lấy bệnh phẩm:**

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương để thực hiện xét nghiệm này.

Huyết thanh: Chỉ ly tâm khi đã hình cục máu đông. Không sử dụng ống thủy tinh để lấy máu.

Huyết tương: Thuốc chống đông có thể chấp nhận được là Natri heparin và K2-EDTA. Không sử dụng Lithium heparin. Không sử dụng ống thủy tinh để lấy máu.

Mẫu được bảo quản ở 20 – 25°C tối đa 1 ngày, ở 2 – 8°C tối đa 7 ngày, ở -20°C tối đa 6 tháng.

Mẫu có nồng độ Lithium >3,51 mmol/L cần hòa loãng thủ công hoặc tự động. Nếu pha loãng thủ công kết quả cần nhân với độ hòa loãng. Pha loãng tự động máy sẽ pha loãng 1:40 và kết quả tự động được nhân với độ hòa loãng.

## **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 Lithium. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Lithium. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Lithium 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).

- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Nồng độ Lithium 12 giờ sau liều điều trị: 1,0 đến 1,2 mmol/L

Nếu lớn hơn 1,5 mmol/L 12 giờ sau liều là có nguy cơ gây ngộ độc đáng kể.

## **IV. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Huyết thanh vàng: Không có nhiều đáng kể với nồng độ bilirubin liên hợp khoảng: 684  $\mu$ mol/L (40 mg/dL), bilirubin không liên hợp khoảng: 428  $\mu$ mol/L (25 mg/dL).

Tán huyết: Không có nhiều đáng kể với nồng độ hemoglobin: 1000 mg/dL.

Huyết thanh đục: Không có nhiều đáng kể với nồng độ triglycerid tối đa đến 1500 mg/dL.



## **ĐỊNH LƯỢNG Lp (a) (N LATEX LP a)**

### **Bảng viết tắt:**

Lp(a): lipoprotein(a)

### **I. NGUYÊN LÝ**

Xét nghiệm định lượng lipoprotein(a) [Lp(a)] trong huyết thanh người và huyết tương heparin bằng hạt hóa phát quang sử dụng hệ thống BN II and BN ProSpec® System. Đo lường Lp(a) hỗ trợ trong việc xác định các cá thể có nguy cơ bị các bệnh lý tim mạch đối với 1 nhóm dân số cụ thể khi sử dụng kết hợp với các đánh giá lâm sàng. Lp(a) bao gồm 2 thành phần LDL với apolipoprotein B-100 là protein thành phần chính được liên kết cộng hóa trị với glycoprotein, apolipoprotein(a) [Apo(a)]. Nồng độ Lp(a) trong máu phụ thuộc vào yếu tố về gen, khoảng biến thiên trong 1 nhóm dân số là khá lớn. Sự tăng nồng độ Lp(a) là nguy cơ cho bệnh mạch vành. Xác định nồng độ Lp(a) có thể hữu ích để quản lý hướng dẫn các cá nhân có lịch sử gia đình mắc bệnh mạch vành hoặc đang mang bệnh.

**Nguyên lý:** Hạt Polystyrene được bao với kháng thể đặc biệt với Lp(a) người được kết tụ khi trộn lẫn với mẫu có chứa Lp(a). Những kết tủa này phản chiếu ánh sáng được chiếu qua mẫu. Cường độ của ánh sáng phản xạ tỉ lệ với nồng độ của protein cần đo trong mẫu. Kết quả được đánh giá bằng việc so sánh với nồng độ của chất chuẩn đã biết.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

#### **2. Phương tiện hóa chất**

##### **2.1 Phương tiện**

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

##### **2.2. Hoá chất**

- Hóa chất dùng để phân tích

N Latex Lp(a) 3 x 2 mL

Thành phần: N Latex Lp(a) chứa các hạt polystyrene được làm khô lạnh và được bao bởi khagns thể kháng mảnh Lp(a)- $\gamma$ -globulin người được sản xuất từ thỏ (62.5 mg/L).

- Chất chuẩn N Lp(a) Standard SY, REF OQCV

Chất kiểm chuẩn N Lp(a) Control SY, REF OQCW

Chất pha loãng N Diluent, REF OUMT

### 3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### 4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm là mẫu huyết thanh hoặc mẫu huyết tương (chống đông bằng heparin), mẫu mới lấy nhất có thể (bảo quản ở 2- 8 °C không quá 7 ngày) hoặc mẫu đông lạnh. Mẫu có thể bảo quản dưới -20 °C trong 1 tháng nếu mẫu được đông lạnh ngay trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và tránh rã đông nhiều lần. Mẫu huyết thanh phải được làm đông hoàn toàn và sau khi ly tâm phải không được chứa bất kỳ hạt nào hoặc dấu tích của fibrin.

### 2. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị hóa chất: hòa trộn thành phần khô trong ống với 2 mL nước cất và để 30 phút trước khi sử dụng. Lắc kỹ để hòa trộn đều trước khi dùng.
- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Lp(a). Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Lp(a). Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Lp(a) đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích.
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### Giá trị tham chiếu

| Nhóm nghiên cứu                    | Số lượng | 5-95% (mg/L) |
|------------------------------------|----------|--------------|
| Da trắng                           | 628      | 0.02 - 0.72  |
| African-American                   | 142      | 0.04 - 1.09  |
| Tây Ban Nha- Bồ Đào Nha (Hispanic) | 39       | 0.02 - 0.53  |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ:

- Những chất sau được ghi nhận không ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm: Triglycerides dưới 11.6 g/L, hemoglobin tự do dưới 10 g/L, bilirubin dưới 600 mg/L.
- Các thuốc sau không ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm: ASPIRIN,  $\beta$ -estradiol (estrogen), niacin, pravastatin or simvastatin.
- Mẫu máu lipid cao hoặc mẫu đông lạnh sau khi được rã đông sẽ bị đục, phải được làm trong bằng ly tâm (10 phút ở 15 000 x g) trước khi xét nghiệm.

# **ĐỊNH LƯỢNG METHADONE**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Methadone là một xét nghiệm chẩn đoán in vitro dùng để phát hiện định tính và bán định lượng methadone trong nước tiểu. Đây là một diphenylpropylamine tổng hợp sử dụng để giải độc và duy trì nghiện ma túy tạm thời cũng như điều trị đau cấp và mạn tính. Quá liều methadone gây choáng váng, ức chế hô hấp, da ẩm và lạnh, hạ huyết áp, hôn mê, suy tuần hoàn. Thuốc dùng đường tiêm bắp hoặc đường uống. thuốc được đào thải qua nước tiểu

Xét nghiệm dựa trên sự tương tác động học của các vi hạt trong dung dịch, được đo bởi những thay đổi trong dẫn truyền ánh sáng. Trong trường hợp không có thuốc mẫu, thuốc liên hợp hòa tan gần với vi hạt liên kết với kháng thể, tạo thành các vi hạt kết tập. Khi mẫu nước tiểu chứa thuốc đang nghi ngờ, thuốc này cạnh tranh với dẫn xuất thuốc liên hợp với vi hạt liên kết với kháng thể. Kháng thể gắn với thuốc trong mẫu thử không còn khả năng thúc đẩy hình thành hạt ngưng kết, sau đó ức chế hình thành lưới hạt. Sự có mặt của thuốc trong mẫu thử làm giảm sự gia tăng độ hấp thu, tỷ lệ với nồng độ thuốc trong mẫu thử.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

- 1 cán bộ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả;
- 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

### **2. Phương tiện và hóa chất:**

#### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm hóa sinh tự động
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

#### **2.2. Hóa chất:**

- Hóa chất định lượng
- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng, dung dịch hệ thống

### **3. Người bệnh:** cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm:

Mẫu nước tiểu mới có thể sử dụng ngay nhưng tránh cận. pH mẫu nước tiểu khoảng 5-8.

Bảo quản nước tiểu 5 ngày ở 2-8<sup>0</sup>C. Nếu để lâu hơn nên đông lạnh mẫu.

Ly tâm nếu nước tiểu đục

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

- KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG: việc thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 2 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

#### Giá trị tham chiếu:

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh.  
Với xét nghiệm định tính, ngưỡng chuẩn được sử dụng để tham chiếu trong phân biệt giữa mẫu dương tính sơ bộ và mẫu âm tính.  
Xét nghiệm định tính: kết quả của xét nghiệm này chỉ phân biệt được mẫu dương tính sơ bộ với mẫu âm tính. Không thể ước lượng thuốc được phát hiện trong một mẫu dương tính sơ bộ
- Giới hạn phát hiện: 10.4 ng/mL

### V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Kết quả dương tính sơ bộ cho thấy sự hiện diện của methadone và/hoặc các chất chuyển hóa của nó có trong nước tiểu. Xét nghiệm không đo mức độ của sự nhiễm độc
- Một số chất dưới đây có thể gây nhiễu kết quả: Acetone, acid ascorbic, bilirubin, creatinin, ethanol ...

# **ĐỊNH LƯỢNG OSTEOCALCIN MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Osteocalcin được định lượng theo nguyên lý kỹ thuật miễn dịch hoá phát quang kiểu sandwich.

Nguyên lý: Các hạt rắn được gắn KT đơn dòng của chuột kháng osteocalcin. Thuốc thử có KT đa dòng của thỏ liên hợp với alkaline phosphatase kháng lại osteocalcin. Kháng nguyên có mặt trong mẫu bệnh phẩm kết hợp với hai loại KT đặc hiệu nêu trên tạo phức hợp kiểu sandwich: KT-KN-KT. Sau khi các thành phần không tham gia phản ứng được rửa khỏi ống phản ứng, cơ chất có khả năng phát quang (chemiluminescent substrate) được thêm vào, cường độ sáng sinh ra tỷ lệ thuận với nồng độ osteocalcin có mặt trong mẫu bệnh phẩm.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Nhân viên của phòng xét nghiệm có trình độ phù hợp.

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

#### **2.1. Phương tiện**

- Hệ thống máy miễn dịch tự động IMMULITE 2000.
- Máy ly tâm

#### **2.2. Hoá chất**

- Thuốc thử osteocalcin
- Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC)
- Nước cất

**3. Người bệnh:** Người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm:**

- Huyết thanh hoặc huyết tương chống đông heparin được khuyến cáo sử dụng cho XN này
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh. Máu sau khi lấy được để trong đá.

- Ly tâm lạnh, sau đó tách huyết thanh/ huyết tương ngay.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 2 giờ.
- Bảo quản bệnh phẩm ở - 20°C được 30 ngày.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

## **2. Tiến hành kỹ thuật:**

- Ly tâm ống máu trong 3 phút với vận tốc 5000 vòng/ phút.
- Đặt ống máu đã được ly tâm vào vị trí trên khay chứa mẫu.
- Vận hành máy theo hướng dẫn trong tài liệu hướng dẫn sử dụng máy miễn dịch IMMULITE 2000.
- Máy sẽ tự động in ra kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích.
- Kiểm soát chất lượng:

*Hàng ngày* : Chạy 2 mức chất chứng vào đầu ngày làm việc. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi chất chứng. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu cả hai mức chất chứng nằm trong khoảng cho phép.

*Định kỳ* : Chuẩn lại và chạy 2 mức chất chứng sau khi thay lô thuốc thử mới hoặc sau khi bảo dưỡng, sửa chữa máy do sự cố, thay thế trang thiết bị phân tích quan trọng. Ghi lại kết quả vào bảng theo dõi chuẩn máy XN.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1. Giá trị tham chiếu:**

Giá trị osteocalcin ở người lớn từ <2 – 22 ng/ml.

### **2. Ý nghĩa lâm sàng:**

Osteocalcin là một protein phụ thuộc vitamin K trọng lượng phân tử khoảng 5800 Daltons. Osteocalcin là một trong các protein không phải collagen phổ biến nhất trong xương, chiếm 3% protein của xương. Định lượng Osteocalcin giúp tiên lượng tiến triển của bệnh xương. Nồng độ Osteocalcin tăng gấp trong các bệnh như nhuyễn xương, bệnh Paget, cường giáp, cường cận giáp tiên phát, loạn dưỡng xương trong bệnh thận, loãng xương mãn kinh. Nồng độ osteocalcin giảm trong suy cận giáp, điều trị corticosteroid dài ngày.

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ.**

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

## ĐỊNH LƯỢNG p2PSA

### I. NGUYÊN LÝ

Kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt (TTL) (Prostate-specific antigen – PSA) là một serine protease, được sản xuất bởi cả các tế bào biểu mô TTL lành tính và ác tính. Những bất thường trong cấu trúc của TTL do chấn thương hay bệnh lý đều có thể dẫn tới “thấm thấu” PSA vào máu. Trong huyết thanh, PSA tồn tại ban đầu dưới ở dạng tự do “không tạo phức” (fPSA) hoặc dạng “phức hợp” (cPSA) gắn với chất ức chế protease huyết thanh alpha 1-antichymotrypsin. Thông thường, 70 – 90% PSA trong huyết thanh là cPSA, còn lại là fPSA. Trị số %fPSA ( $\text{fPSA}/\text{tPSA}$ ) càng cao thì nguy cơ mắc ung thư TTL càng thấp, ngược lại trong khi giá trị %fPSA càng thấp đồng nghĩa với nguy cơ mắc ung thư cao hơn.

Các dạng tồn tại khác của fPSA là ProPSA và BPSA cho thấy mối liên hệ với bệnh lớn hơn so với PSA, fPSA hay cPSA riêng lẻ. Các dạng cắt ngắn của proPSA trong các mô ung thư thuộc vùng ngoại vi tăng cao hơn so với trong các mô BPH (phì đại lành tính TTL). ProPSA tăng trong các mô ung thư của TTL, trong khi BPSA tăng trong các mô thuộc vùng chuyển tiếp các nốt BPH (nốt tăng sản) và tăng cao hơn so với nồng độ của nó ở các mô vùng ngoại vi. ProPSA tìm thấy ở dạng gốc chứa một đoạn pro peptide dẫn đường (pro leader peptide) gồm 7 acid amin ([–7]proPSA), tương tự như các dạng pro peptide dẫn đường cắt ngắn khác. Các dạng cắt ngắn của proPSA chủ yếu gồm ProPSA gắn với một đoạn pro peptide dẫn đường gồm 5 acid amin ([–5]proPSA), 4 acid amin ([–4]proPSA) hoặc 2 acid amin ([–2]proPSA) hay [p2PSA]. p2PSA là pro peptide đáng chú ý nhất vì đây là dạng chủ yếu được tìm thấy khi chiết xuất khỏi u và thể hiện màu nhuộm miễn dịch trong khối u TTL cao hơn so với mô lành tính. Ngoài ra, trong chẩn đoán *in vitro*, p2PSA cũng là dạng ổn định nhất trong số 5 dạng proPSA đã được xác định. Khi có trị số p2PSA có thể kết hợp với kết quả của tPSA và fPSA để tính chỉ số *phi* (chỉ số sức khỏe tiền liệt tuyến). *Có độ nhạy và đặc hiệu trên lâm sàng trong phát hiện ung thư TTL.*

Định lượng p2PSA dựa trên nguyên lý miễn dịch kiểu “Sandwich” enzyme 2 vị trí gắn. Mẫu bệnh phẩm định lượng p2PSA được cho vào cuvet phản ứng cùng với chất cộng hợp kháng thể (đơn dòng, chuột) kháng [–2]PSA - alkaline phosphatase, các hạt thuận từ phủ kháng thể (đơn dòng, chuột) kháng [–2]proPSA và dung dịch khóa (blocking reagent). [–2]proPSA có trong mẫu bệnh phẩm gắn với kháng thể đơn dòng kháng [–2]proPSA đã được cố định trên pha rắn, cùng lúc đó, chất cộng hợp kháng thể đơn dòng kháng PSA – alkaline phosphatase phản ứng với các vị trí kháng nguyên khác trên phân tử [–2]proPSA. Sau khi ủ trong giếng phản ứng, các chất gắn với pha rắn sẽ được giữ lại trong từ trường, các thành phần không gắn sẽ bị rửa trôi. Tiếp đó, chất nền quang hóa



Lumi-Phos 530 được thêm vào giếng phản ứng và ánh sáng tạo ra bởi phản ứng được đo bằng bộ phận đo quang (luminometer). Cường độ ánh sáng tạo ra tỷ lệ thuận với nồng độ [-2]proPSA có trong mẫu phản ứng. Lượng chất cần phân tích trong mẫu được xác định dựa trên đường cong chuẩn đa điểm đã được lưu trong máy.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

### **2. Phương tiện hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Các máy có thể phân tích: Unicel DxI 800 và một số máy miễn dịch khác có thuốc thử thực hiện xét nghiệm này.
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất và bảo quản chất chuẩn cal, QC, mẫu bệnh phẩm
- pipet các loại, cốc đựng bệnh phẩm
- Ống nghiệm, đầu côn xanh và vàng
- Giá đựng ống nghiệm

#### **2.2. Hóa chất**

Các hóa chất cần thiết cho phân tích trên máy Unicel DxI 800 gồm:

- Hóa chất chính Access Hybritech p2PSA: Hóa chất tích hợp sẵn sàng cho sử dụng, đóng gói 100 xét nghiệm/hộp. Bảo quản ở 2-8°C.
- Chất hiệu chuẩn Access Hybritech p2PSA Calibrators: dùng để xây dựng đường cong chuẩn cho xét nghiệm p2PSA trên máy Unicel DXI 800. Chất hiệu chuẩn có 7 mức, được bảo quản ở -20°C khi chưa mở nắp, sau khi mở nắp, bảo quản ở 2-10°C chất chuẩn ổn định trong vòng 60 ngày.
- Chất kiểm chứng Access Hybritech p2PSA QC: Dùng để kiểm tra tính chính xác của kết quả xét nghiệm p2PSA.
- Access Substrate: Cơ chất phát quang
- Unicel DxI Wash buffer II: Dung dịch rửa phản ứng
- Unicel DxI Reaction Vessel: Giếng phản ứng

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và ngày giờ lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Nên sử dụng bệnh phẩm là huyết thanh. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông.
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Mẫu xét nghiệm trong vòng 24 giờ, sau khi lấy mẫu cần phải ly tâm tách huyết thanh và được bảo quản trong ở 2 – 8°C. Các mẫu bệnh phẩm lưu giữ trong thời gian dài hơn (khoảng 5 tháng) nên để đông lạnh ở -20°C hoặc lạnh hơn. Nếu lưu giữ trong khoảng thời gian dài hơn 5 tháng, mẫu bệnh phẩm cần được làm đông lạnh ở -70°C. Mẫu nên rã đông 1 lần

#### **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 p2PSA. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm p2PSA. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm p2PSA 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 chu trình thực hiện tự động 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**

#### **3. Giá trị tham chiếu**

Chỉ sử dụng đơn thuần các giá trị [-2]proPSA chưa được chứng minh là có hiệu quả trong việc theo dõi người bệnh. Chỉ số *phi* Beckman Coulter được tính toán dựa trên nồng độ của PSA, fPSA, và [-2]proPSA, được thiết kế để tối ưu hóa độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng, hỗ trợ trong việc xác định nguy cơ ung thư tuyến tiền liệt.

|                                                            |                  | Lành tính         | Ung thư           | Toàn phần         |
|------------------------------------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| <b>PSA<br/>(ng/mL)</b><br><b>Hiệu chuẩn<br/>Hybritech</b>  | Trung vị         | 5,09              | 5,28              | 5,15              |
|                                                            | Trung bình $\pm$ | $5,29 \pm 1,95$   | $5,35 \pm 1,87$   | $5,31 \pm 1,91$   |
|                                                            | SD               | 1,99 - 10,04      | 2,02 - 9,68       | 1,99 - 10,04      |
|                                                            | Dải giá trị      |                   |                   |                   |
| <b>fPSA<br/>(ng/mL)</b><br><b>Hiệu chuẩn<br/>Hybritech</b> | Trung vị         | 0,98              | 0,80              | 0,90              |
|                                                            | Trung bình $\pm$ | $1,04 \pm 0,51$   | $0,92 \pm 0,55$   | $0,99 \pm 0,53$   |
|                                                            | SD               | 0,26 - 4,34       | 0,18 - 3,91       | 0,18 - 4,34       |
|                                                            | Dải giá trị      |                   |                   |                   |
| <b>[-2]<br/>proPSA<br/>(pg/mL)<sup>†</sup></b>             | Trung vị         | 12,44             | 13,41             | 12,94             |
|                                                            | Trung bình $\pm$ | $13,84 \pm 6,79$  | $16,08 \pm 10,30$ | $14,85 \pm 8,61$  |
|                                                            | SD               | 2,86 - 43,54      | 3,98 - 90,78      | 2,86 - 90,78      |
|                                                            | Dải giá trị      |                   |                   |                   |
| <b>%fPSA</b>                                               | Trung vị         | 19,38             | 16,15             | 17,80             |
|                                                            | Trung bình $\pm$ | $20,33 \pm 7,94$  | $17,51 \pm 8,05$  | $19,06 \pm 8,11$  |
|                                                            | SD               | 3,51 - 53,22      | 5,37 - 51,07      | 3,51 - 53,22      |
|                                                            | Dải giá trị      |                   |                   |                   |
| <b>Chỉ số phi</b>                                          | Trung vị         | 29,42             | 37,63             | 32,59             |
|                                                            | Trung bình $\pm$ | $31,81 \pm 13,25$ | $43,69 \pm 26,64$ | $37,14 \pm 21,20$ |
|                                                            | SD               | 13,67 - 94,44     | 14,03             | -                 |
|                                                            | Dải giá trị      |                   | 325,80            | 13,67 - 325,80    |

Đối với các người bệnh có PSA nằm trong dải từ 2-10 ng/mL và có kết quả thăm khám trực tràng bằng ngón tay (DRE) âm tính, chỉ số *phi* càng cao thể hiện nguy cơ ung thư cao và ngược lại.

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Việc sử dụng thường xuyên các thuốc ức chế 5  $\alpha$ -reductase làm giảm nồng độ PSA, fPSA và [-2]proPSA trong huyết thanh người bệnh. Những thuốc khác được dùng để điều trị phì đại lành tính tuyến tiền liệt cũng có thể ảnh hưởng tới nồng độ PSA. Do đó, cần thận trọng khi đánh giá kết quả ở những người bệnh đang sử dụng các thuốc này.

- Nồng độ protein sinh lý toàn phần bình thường nằm trong khoảng 60-80 g/L. Đối với những mẫu bệnh phẩm có nồng độ protein toàn phần tăng cao > 80 g/L, protein toàn phần có thể trở thành yếu tố gây nhiễu. Do đó, cần thận trọng khi đánh giá kết quả ở những người bệnh có nồng độ protein toàn phần tăng cao.

- Các mẫu huyết thanh có chứa đến 500 mg/dL (5 g/L) hemoglobin, 20 mg/dL (0,2 g/L) bilirubin, 1500 mg/dL (15 g/L) triglyceride, và nồng độ protein toàn phần là 62 g/L không ảnh hưởng đến xét nghiệm Access Hybritech p2PSA.
- Tránh trường hợp mẫu bị cục đông hoặc sợi huyết cần thực hiện đúng quy trình tiền phân tích và ly tâm đủ thời gian để huyết thanh được tách toàn bộ và trong suốt.

## ĐỊNH LƯỢNG PIVKA II

### I. NGUYÊN LÝ

PIVKA-II: là tên viết tắt của Prothrombin induced by the absence of vitamin K hay còn gọi là antagonist-II PIVKA-II là protein des-carboxylated prothrombin (DCP) bất thường được tạo ra do sự thiếu hụt vitamin K hoặc có ở người bệnh được điều trị bằng warfarin hay phenprocoumon. Protein des-carboxylated prothrombins bị hỏng chức năng do không thể gắn kết với canxi và phospholipid.

Đo PIVKA-II giúp phát hiện thiếu hụt Vitamin K trước khi kết quả xét nghiệm đông máu thay đổi hay xảy ra xuất huyết. PIVKA-II không có trong cá thể bình thường, nhưng ở cá thể bị bệnh gan và gan ác tính, PIVKA-II có thể xuất hiện dù không bị thiếu hụt vitamin K. Nồng độ PIVKA-II được xác định để hỗ trợ chẩn đoán và tiên lượng ở người bệnh bị HCC và theo dõi HCC trong quá trình điều trị.

Định lượng PIVKA-II dựa trên nguyên lý miễn dịch hai bước để định lượng PIVKA-II trong huyết thanh hay huyết tương người sử dụng công nghệ CMIA với quy trình xét nghiệm linh hoạt, còn gọi là Chemiflex.

**Bước 1.** Mẫu, dung dịch pha loãng xét nghiệm và vi hạt thuận từ hủ anti-PIVKA-II được kết hợp lại. PIVKA-II có trong mẫu gắn kết với anti-PIVKA-II phủ trên vi hạt.

**Bước 2.** Sau khi rửa, chất kết hợp anti-prothrombin có đánh dấu acridinium được cho vào hỗn hợp phản ứng.

**Bước 3.** Tiếp theo một quá trình rửa sau đó, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đối (RLU). Có sự tương quan trực tiếp giữa lượng PIVKA-II trong mẫu và RLU được bộ phận quang học trong máy phát hiện.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

#### 2. Phương tiện hóa chất

##### 2.1. Phương tiện

- Các máy, thiết bị có thể phân tích: Architect i1000SR, Architect i2000SR và một số máy khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản hóa chất, calibrator, control và mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại
- Ống chứa mẫu bệnh phẩm
- Đầu pipet tùy chọn
- Giá chứa mẫu bệnh phẩm

## 2.2. Hóa chất

- PIVKA-II Reagent Kit (Bộ Thuốc thử) bao gồm:
  - + Microparticle (vi hạt từ): Anti-PIVKA-II (chuột, kháng thể đơn dòng) phủ trên vi hạt trong dung dịch đệm Tris-HCl với chất ổn định protein (từ bò). Nồng độ tối thiểu: 0,025% rắn. Chất bảo quản: ProClin 300 và ProClin 950.
  - + Conjugate (chất gắn kết): Anti-prothrombin (chuột, kháng thể đơn dòng) chất kết hợp có đánh dấu acridinium trong dung dịch đệm MES với chất ổn định protein (từ bò). Nồng độ tối thiểu: 750/mL. Chất bảo quản: ProClin 300 and ProClin 950.
  - + Assay diluent (Dung dịch pha loãng cho xét nghiệm): Tris-HCl diluent. Chất bảo quản: ProClin 950 và sodium azide.
- PIVKA-II Assay file.
- PIVKA-II Calibrators
- PIVKA-II Controls
- Pre-Trigger Solution (Dung dịch tiền phản ứng)
- Trigger Solution (Dung dịch phản ứng)
- Wash Buffer (Dung dịch đệm rửa)
- Reaction Vessels (Cống phản ứng)
- Sample Cups (Cốc đựng mẫu)
- Septum (Màng ngăn)
- Replacement Caps (Nắp thay thế)

## 3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

## 4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Thực hiện xét nghiệm theo y lệnh của bác sĩ lâm sàng trên phiếu chỉ định xét nghiệm
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, ngày giờ chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như sodium heparin, lithium heparin, EDTA.
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.

- Bệnh phẩm được tách huyết thanh, huyết tương để ổn định nhiệt độ phòng trong vòng 24 giờ, 2-8 °C trong 7 ngày hoặc 5 năm ở -20°C
- Nếu xét nghiệm được thực hiện trễ hơn 7 ngày, bảo quản đông lạnh mẫu huyết thanh hay huyết tương ở nhiệt độ -20°C hoặc thấp hơn.
- Tránh đông lạnh/rã đông hơn 2 lần.

## **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 PIVKA II. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm PIVKA II. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm PIVKA II 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**

### **1. Giá trị tham chiếu**

≤40 mAU/mL.

### **2. Tăng trong trường hợp**

Thiếu hụt vitamin K hoặc không thiếu hụt vitamin K ở những cá thể bị bệnh gan hoặc ung thư gan ác tính

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Các mẫu xét nghiệm lấy từ người bệnh đã nhận các chế phẩm từ các kháng thể đơn dòng chuột cho chẩn đoán hoặc điều trị có thể chứa các kháng thể kháng chuột ở người (HAMA). Những mẫu này có thể cho giá trị thay đổi tăng hoặc giảm giả khi xét nghiệm với các bộ xét nghiệm như PIVKA-II có sử dụng các kháng thể đơn dòng chuột. Có thể yêu cầu thêm thông tin cho chẩn đoán.
- Kháng thể dị hình trong huyết thanh người có thể phản ứng với immunoglobulins thuốc thử, gây nhiễu với xét nghiệm miễn dịch in vitro. Người bệnh thường phơi nhiễm với động vật hay các sản phẩm huyết thanh động vật có thể dễ gây nhiễu và cho kết quả bất thường. Cần thêm thông tin bổ sung để chẩn đoán.
- Yếu tố dạng thấp (RF) trong huyết thanh người có thể phản ứng với immunoglobulins thuốc thử, gây nhiễu với xét nghiệm miễn dịch in vitro. Có thể yêu cầu thêm thông tin cho chẩn đoán.
- Thuốc có chứa Vitamin K có thể dẫn đến kết quả bị lệch âm tính đến giá trị (PIVKA-II). Giá trị PIVKA-II có thể cho giá trị lệch dương tính khi người

bệnh được điều trị bằng thuốc kháng sinh, thuốc đối kháng vitamin K, tình trạng dinh dưỡng ít vitamin K, người bệnh bị bệnh gan do sử dụng chất cồn.

- **Các chất có nguy cơ gây nhiễu**

Dữ liệu từ nghiên cứu cơ chất có ảnh hưởng nhiễu được tóm tắt tại bảng sau.



# ĐỊNH LƯỢNG PYRILINKS-D

## I. NGUYÊN LÝ

Khoảng 90% chất nền hữu cơ của xương là collagen loại 1, một protein có cấu trúc xoắn ba. Collagen loại 1 của xương được liên kết chéo bởi các phân tử đặc trưng tạo nên độ bền và độ chặt cho protein này. Các liên kết chéo của collagen loại 1 trưởng thành trong xương là liên kết chéo pyridinium, pyridinoline (PYD) và deoxypyridinoline (DPD). DPD được tạo thành nhờ tác động enzym của lysyl oxidase lên amino acid lysine. DPD được giải phóng vào tuần hoàn trong quá trình tiêu xương. DPD được bài tiết dưới dạng không bị chuyển hóa vào nước tiểu và không bị ảnh hưởng bởi chế độ ăn, đặc điểm này khiến DPD phù hợp để đánh giá tình trạng tiêu xương. Xét nghiệm Pyrilinks-D để theo dõi các thay đổi về bài tiết DPD trong nước tiểu liên quan đến liệu pháp chống tiêu xương bằng amino-bisphosphonate (alendronate). Kết quả từ nghiên cứu này cho thấy xét nghiệm Pyrilinks-D an toàn và hiệu quả để theo dõi tác dụng chống tiêu xương của liệu pháp aminobisphosphonate (alendronate) ở những đối tượng được chẩn đoán bị loãng xương.

**Nguyên lý xét nghiệm:** miễn dịch cạnh tranh hóa phát quang pha rắn, đánh dấu enzym. Pha rắn (hạt) được bọc kháng thể đơn dòng của chuột kháng deoxypyridinoline (kháng thể kháng DPD). Pha lỏng chứa photphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với deoxypyridinoline (DPD).

Mẫu bệnh phẩm và thuốc thử được ủ cùng với hạt đã được bọc trong 30 phút. Trong thời gian này, DPD trong mẫu cạnh tranh với DPD được liên hợp với enzym trong thuốc thử để giành một số lượng có giới hạn các vị trí gắn kháng thể trên hạt. Sau đó, mẫu của người bệnh không liên kết và liên hợp enzyme được loại bỏ bằng cách rửa ly tâm. Cuối cùng, cơ chất hóa phát quang được thêm vào đơn vị xét nghiệm có chứa hạt và tín hiệu được sinh ra tỷ lệ với enzym liên kết.

Chu kỳ ủ: 1 x 30 phút

Thời gian đến khi đạt kết quả đầu tiên: 42 phút

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy immulite 1000 tự động.

### 2. Phương tiện hóa chất

#### 2.1. Phương tiện

- Máy phân tích: IMMULITE®/IMMULITE 1000 Pyrilinks-D,...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh bảo quản: hóa chất, chất chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm

- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông cotton sát trùng, găng tay,...

## **2.2. Hoá chất**

### **Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc**

- Đơn vị xét nghiệm Pyrilinks-D (LPD1)

Mỗi đơn vị được đánh dấu bằng mã vạch chứa một hạt được bọc bằng kháng thể đơn dòng của chuột kháng DPD. Ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn.

LKPD1: 100 đơn vị

- Hộp thuốc thử hình nôm Pyrilinks-D (LPD2)

Có mã vạch. 7,5 mL photphatase kiềm (ruột bê) được liên hợp với DPD trong dung dịch đậm, có chất bảo quản. Bảo quản trong điều kiện đóng nắp và lạnh: ổn định ở 2–8°C cho đến ngày hết hạn. Khuyến cáo sử dụng trong vòng 30 ngày sau khi mở khi được bảo quản đúng quy định.

LKPD1: 2 hộp hình nôm

Các chất điều chỉnh Pyrilinks-D (LPDL, LPDH)

- Hai lọ (nồng độ Thấp và nồng độ Cao), mỗi lọ 3 mL, DPD trong chất nền phosphoric acid. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc trong 6 tháng (được chiết tách) ở -20°C.

LKPD1: 1 bộ

### **Các thành phần của bộ dụng cụ được cung cấp riêng**

#### ***Chất pha loãng mẫu Pyrilinks-D (LPDZ)***

Để pha loãng các mẫu của người bệnh theo cách thủ công. Một lọ chứa 25 mL chất nền phosphoric acid không có DPD. Ổn định ở 2–8°C trong 30 ngày sau khi mở, hoặc thời gian dài hơn (được chiết tách) ở -20°C.

**LSUBX:** Cơ chất hóa phát quang

## **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

## **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Mẫu bệnh phẩm nước tiểu không có chất bảo quản: lấy mẫu đầu tiên hoặc thứ hai buổi sáng, trước 10 giờ sáng để tránh bất kỳ khả năng ảnh hưởng nào từ biến thiên trong ngày. Mẫu nước tiểu có chứa bilirubin hoặc hemoglobin không phù hợp để sử dụng. Cả hai chất này đều làm tăng DPD biểu kiến.

**Bảo quản mẫu:** mẫu lưu 7 ngày ở 2–8°C; thời gian dài hơn nếu được làm đông ở -20°C. Tránh lặp lại nhiều lần các chu kỳ đông đá/rã đông và tiếp xúc kéo dài với ánh sáng mặt trời.

- Trước khi xét nghiệm, để mẫu đạt đến nhiệt độ phòng (15–28°C). Sau khi làm lạnh hoặc làm đông và rã đông, hay nếu có vẩn đục, cần làm trong mẫu bằng cách ly tâm trước khi sử dụng. Tách riêng phần nước tiểu phía trên khỏi cặn lắng và trộn bằng cách lắc hoặc đảo đi đảo lại nhẹ nhàng.

- Khi theo dõi liệu pháp, mẫu ban đầu và tất cả các mẫu tiếp theo nên được lấy vào cùng một thời điểm trong ngày. Không trao đổi giữa lần đi tiểu đầu tiên và lần đi tiểu thứ hai vào buổi sáng.

## **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 Pyrilinks-D. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Pyrilinks-D. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Pyrilinks-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.

Lưu ý rằng để có hiệu suất tối ưu, điều quan trọng là cần phải thực hiện tất cả các quy trình bảo dưỡng định kỳ theo quy định trong Sổ tay hướng dẫn vận hành hệ thống IMMULITE hoặc IMMULITE 1000.

Xem thêm trong Sổ tay hướng dẫn vận hành hệ thống IMMULITE hoặc IMMULITE 1000 để biết các quy trình chuẩn bị, thiết lập, pha loãng, điều chỉnh, xét nghiệm và kiểm soát chất lượng.

**Khoảng điều chỉnh được khuyến nghị:** 4 tuần

**Kiểm soát chất lượng:** Sử dụng IQC hàng ngày với ít nhất là hai mức cho DPD.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### ***Biện luận kết quả:***

Để hiệu chỉnh các biến thiên trong dòng nước tiểu, các kết quả DPD phải được chuẩn hóa theo nồng độ creatinine trong nước tiểu và được thể hiện theo nanomol DPD trên lít chia cho millimol creatinine trên lít (nM DPD/mM creatinine).

### ***Hệ số chuyển đổi:***

Creatinine mg/dL  $\times$  0,088  $\rightarrow$  mmol/L creatinine

***Giá trị dự kiến***

Các khoảng tham chiếu sau đây dành cho DPD trong nước tiểu (được chuẩn hóa theo nồng độ creatinine) đã được thiết lập cho người trưởng thành trên 25 tuổi bằng một xét nghiệm miễn dịch enzym cho Pylinks®-D từ Metra Biosystems, Inc:

Nữ: 3,0–7,4 nM DPD/mM creatinin

Nam: 2,3–5,4 nM DPD/mM creatinin

Chỉ xem các giới hạn này là tham khảo. Mỗi phòng xét nghiệm cần phải thiết lập phạm vi tham chiếu của riêng mình.

Xét nghiệm Pylinks-D để theo dõi các thay đổi về bài tiết DPD trong nước tiểu liên quan đến liệu pháp chống tiêu xương bằng amino-bisphosphonate (alendronate).

**V. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Mặc dù IMMULITE/IMMULITE 1000 Pylinks-D đóng vai trò chỉ báo tình trạng tiêu xương, nhưng vai trò của xét nghiệm này trong việc dự đoán sự phát triển của loãng xương hoặc rủi ro gãy xương trong tương lai chưa được thiết lập, cũng như chưa thiết lập được cách sử dụng trong bệnh cường tuyến cận giáp, hoặc cường giáp.
- Khi theo dõi liệu pháp, kết quả xét nghiệm IMMULITE/IMMULITE 1000 Pylinks-D có thể bị nhầm lẫn ở các người bệnh mắc các tình trạng lâm sàng được biết là ảnh hưởng đến quá trình tiêu xương, ví dụ: di căn xương, ngoài các bệnh và tình trạng nêu ở trên. Kết quả DPD phải được diễn giải kết hợp với các phát hiện lâm sàng và kết quả chẩn đoán khác và không nên là yếu tố quyết định duy nhất để bắt đầu hay thay đổi liệu pháp.

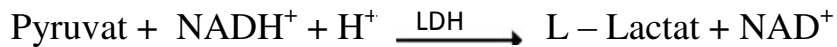
# ĐỊNH LƯỢNG PYRUVAT

## I. NGUYÊN LÝ

Pyruvat là một chất chuyển hóa trung gian, đóng vai trò quan trọng trong việc liên kết quá trình chuyển hóa carbohydrat và amino acid thành chu trình axit tricarboxylic, quá trình beta oxy hóa beta acid béo, và phức hợp chuỗi hô hấp tế bào. Xét nghiệm pyruvate trong máu được thực hiện để xác nhận rối loạn chuyển hóa ty thể và giúp theo dõi hiệu quả điều trị rối loạn chuyển hóa ty thể.

Dưới sự có mặt của enzym Lactat Dehydrogenase (LDH), Pyruvat và  $\text{NADH}^+$  được chuyển thành L – Lactat và  $\text{NAD}^+$ . Sự oxy hóa của  $\text{NADH}^+$  thành  $\text{NAD}^+$  làm giảm mật độ quang học ở bước sóng 340 nm.

Lượng Pyruvat có trong bệnh phẩm tỷ lệ với sự thay đổi mật độ quang học ( $\Delta A$ )



## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### 2. Phương tiện, hóa chất

#### 2.1. Phương tiện:

- Máy bán tự động Screen Master 3000
- Máy ly tâm

#### 2.2. Hóa chất:

- Thuốc thử Pyruvat
- Chuẩn
- Nước cất

### 3. Người bệnh

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### 4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện.
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Hút 2mL máu toàn phần vào một ống ly tâm chứa 4 mL acid Perchloric 0.6 M lạnh. Lắc khoảng 30 giây.
- Để máu lắng xuống trong khoảng 5 phút ở nhiệt độ 4 – 8°C để protein kết tủa. Ly tâm ống máu trong 10 phút với tốc độ 1500 x g. Dịch nổi lên trên không còn protein được sử dụng để làm xét nghiệm
- Dung dịch chuẩn được pha loãng với Perchloric cùng tỷ lệ với bệnh phẩm.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Phương pháp: Đo điểm cuối. Bước sóng: 340 nm
- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm định lượng pyruvat máu. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm pyruvat. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm pyruvat 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)
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Giới hạn bình thường ở nhiệt độ 37°C :

|            |                  |      |                |
|------------|------------------|------|----------------|
| Trẻ em:    | 0.1 – 0.75 mg/dl | hoặc | 11 – 86 µmol/l |
| Người lớn: | 0.36 – 0.6 mg/dl | hoặc | 41 - 67 µmol/l |

Xét nghiệm pyruvat thường thực hiện kèm với lactate máu. Tỷ lệ lactat/pyruvat thấp (tăng pyruvat không cân xứng) ở người bệnh bị rối loạn chuyển hóa pyruvat do di truyền. Bất thường của phức hợp pyruvate dehydrogenase dẫn đến tỷ lệ lactat/pyruvat dưới 10.

Tỷ lệ lactate/pyruvat bình thường ở những người bệnh khác. Có thể tìm thấy một tỷ lệ cao giả tạo nếu người bệnh bị bệnh nặng.

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Không để garo lâu quá, sau khi lấy máu tĩnh mạch phải khử tạp ngay vì để lâu một phần pyruvat sẽ chuyển sang lactat gây sai số thấp.

# **ĐỊNH LƯỢNG QUINIDINE MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Quinidine được sử dụng trong phòng và điều trị loạn nhịp thất, loạn nhịp nhĩ thất, và loạn nhịp trên thất. Khoảng 75% quinidine gắn với protein huyết thanh. Thời gian bán thải của quinidine thay đổi từ 4 đến 10 giờ ở người khỏe mạnh và có thể kéo dài ở người lớn tuổi. Từ 60 đến 80% được chuyển hóa bởi gan với phần lớn phần còn lại được thải trừ qua thận ở dạng không đổi. Liều quinidine cần thiết để đạt nồng độ trị liệu trong huyết thanh phụ thuộc vào dạng bào chế thuốc, tuổi của người bệnh, và sự khác biệt trong hấp thu và chuyển hóa của mỗi cá nhân.

Xét nghiệm này là một xét nghiệm miễn dịch đồng nhất dựa trên nguyên lý đo sự thay đổi ánh sáng tán xạ hay hấp thụ xảy ra khi các vi hạt đã hoạt hóa ngưng kết lại. Các vi hạt được phủ quinidine và nhanh chóng ngưng kết trong dung dịch có chứa kháng thể kháng quinidine. Khi mẫu thử có chứa quinidine, phản ứng ngưng kết bị ức chế một phần, làm giảm tốc độ của quá trình ngưng kết. Kháng thể gắn với thuốc trong mẫu thử không còn khả năng thúc đẩy hình thành vi hạt ngưng kết, ức chế sự hình thành lưới hạt. Từ đó, một đường cong ức chế điển hình tương ứng với nồng độ quinidine sẽ được ghi nhận, với tốc độ ngưng kết tối đa ứng với nồng độ quinidine thấp nhất. Bằng cách theo dõi sự thay đổi ánh sáng tán xạ hay hấp thụ sẽ ghi được một đường cong phụ thuộc nồng độ.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp.

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

#### **Phương tiện**

- Máy có thể phân tích: COBAS C, AU...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyển mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

#### **Hóa chất**

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử định lượng quinidine. Chất chuẩn, Chất kiểm tra chất lượng quinidine.

### **3. Người bệnh:**

Người bệnh, người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III.CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1.Lấy bệnh phẩm:**

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (K2, K3- EDTA, hoặc natri hay lithium heparin) để thực hiện xét nghiệm này. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông là K2, K3- EDTA, hoặc natri hay lithium heparin. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương..

Bệnh phẩm ổn định: 8 giờ ở 15- 25 °C, 48 giờ ở 2- 8 °C, 4 tuần ở -20 °C. Không rã đông nhiều lần

#### **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 quinidine. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm quinidine. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm quinidine 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).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

### **IV.NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Nồng độ quinidine trong huyết thanh là 1.5 đến 5 µg/mL (4.6 đến 15.4 µmol/L) là có tác dụng trị liệu. Tuy nhiên, hiệu quả làm giảm các cơn co thắt tâm thất sớm đã được báo cáo với nồng độ trong máu <1.0 µg/mL (3.1 µmol/L). Ngưỡng độc tính ở nồng độ 6 µg/mL (18.5 µmol/L). Các biểu hiện ngộ độc bao gồm nhịp nhanh thất, chẹn tim, giảm tiểu cầu và “hội chứng quá liều quinine” bao gồm các triệu chứng đau đầu, chóng mặt, ù tai, bồn chồn, mờ mắt, buồn nôn và nôn.

Nồng độ quinidine đo được thấp hơn khi sử dụng các phương pháp xét nghiệm đặc hiệu (HPLC và xét nghiệm miễn dịch). Bác sĩ lâm sàng khi muốn định lượng quinidine trong huyết thanh nên yêu cầu sử dụng phương pháp đặc hiệu.

Các chất chuyển hóa của quinidine có thể tìm thấy trong huyết thanh là 3(S)-hydroxyquinidine, 2'-oxoquinidinone, quinidine-N-oxide, o-desmethylquinidine, và quinidine 10,11- dihydrodiols. Hầu hết các chất chuyển hóa này có tác dụng dược lý trong một số nghiên cứu trên người và động vật, và một số chất chuyển hóa của quinidine có thể có hiệu lực như thuốc gốc. Do sự khác biệt trong chuyển hóa ở từng



người bệnh, nên tỷ lệ tương đối các chất chuyển hóa này được báo cáo trong y văn cũng khác nhau. Mẫu thử huyết thanh chứa quinidine cũng có thể chứa cả dihydroquinidine, một chất tương tự có trong chế phẩm quinidine với tỷ lệ 5 đến 10 % liều. Dihydroquinidine có hoạt tính chống loạn nhịp tương đương quinidine. Những báo cáo gần đây cho rằng nồng độ digoxin trong huyết tương tăng lên khi dùng chung với quinidine. Do vậy, những người bệnh được điều trị phối hợp thuốc cần được theo dõi cẩn thận.

## **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Huyết thanh vàng: Không có nhiều đáng kể với nồng độ bilirubin khoảng: 855  $\mu\text{mol/L}$  hoặc 50 mg/dL.

Tán huyết: Không có nhiều đáng kể với nồng độ hemoglobin: 621  $\mu\text{mol/L}$  hoặc 1000 mg/dL.

Trong một số trường hợp, các mẫu có nồng độ cao triglyceride (ví dụ gần 800 mg/dL hoặc 9,04 mmol/L) có thể gây nhiễu.

Yếu tố dạng thấp: Không có nhiều bởi các yếu tố thấp khớp với nồng độ tối đa đến 100 IU/mL.

Protein toàn phần: Không có nhiều từ protein từ 20- 100 g/L.

Trong một số hiếm trường hợp, bệnh gammaglobulin, đặc biệt típ IgM (bệnh tăng macroglobulin Waldenström), có thể cho kết quả không đáng tin cậy. Do vậy, với mục tiêu chẩn đoán, kết quả xét nghiệm cần được đánh giá kèm theo bệnh sử, thăm khám lâm sàng và các yếu tố khác.

# **ĐỊNH LƯỢNG RBP (RETINOL-BINDING PROTEIN) MÁU**

**BẢNG VIẾT TẮT:**

**RETINOL-BINDING PROTEIN (RbP):** protein vận chuyển retinol

## **TỔNG QUAN:**

RbP được tổng hợp tại gan và là một protein vận chuyển cho retinol (vitamin A). Nồng độ RbP trong huyết thanh và huyết tương phản ánh khả năng tổng hợp của gan và giảm mạnh trong trường hợp dinh dưỡng kém và các điều kiện khác. Do chu kỳ bán rã ngắn (12 giờ), RbP có thể thích hợp cho theo dõi tình trạng dinh dưỡng và hiệu quả của dinh dưỡng ngoài đường tiêu hóa.

## **I. NGUYÊN LÝ**

Protein trong các dịch cơ thể phản ứng hóa miễn dịch với kháng thể đặc hiệu tạo thành phức thể miễn nhiễm. Các phức này phân tán chùm ánh sáng chiếu xuyên qua mẫu. Cường độ ánh sáng phân tán tỉ lệ thuận với nồng độ của protein tương ứng trong mẫu. Kết quả được đánh giá bằng cách so sánh với chuẩn đã biết nồng độ.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động.

### **2. Phương tiện hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

#### **2.2. Hoá chất**

- Hóa chất dùng để phân tích

Là huyết thanh động vật được sản xuất bởi sự tạo miễn dịch thỏ với RbP người độ tinh khiết cao. Nồng độ kháng thể hoạt động < 0.5 g/L

Chất bảo quản: sodium azide < 1 g/L

Đóng gói: Hóa chất sẵn sàng cho sử dụng, 1 x 2 mL

Bảo quản và độ ổn định

Ổn định ở 2 đến 8 °C: đến ngày hết hạn trên nhãn hộp thuốc

Độ ổn định sau khi mở hộp thuốc: 4 tuần nếu được lưu trữ tại 2-8°C, được đậy nắp kín ngay sau mỗi lần sử dụng và không bị nhiễm (e.g., vi sinh vật).

Trong thời gian bảo quản, thuốc thử có thể bị tua hoặc đục nhưng không phải do bị nhiễm vi sinh vật và vì thế sẽ không ảnh hưởng đến độ hoạt động của thuốc. Trong

trường hợp đó, thuốc thử cần được lọc trước khi sử dụng. Màng lọc thích hợp có kích thước lỗ 0.45 µm.

Không được để đông.

Độ ổn định trên máy: Ít nhất là 3 ngày với mỗi 8 tiếng/ ngày, hoặc khoảng thời gian tương ứng.

Ghi chú: Độ ổn định trên máy có thể thay đổi, tùy thuộc vào máy BN sử dụng và điều kiện phòng xét nghiệm. Để biết thêm thông tin chi tiết, tham khảo thêm hướng dẫn sử dụng của máy BN ProSpec®

- Chất chuẩn:
  - N Protein Standard SL (người)
  - N/T Protein Controls SL/L, M và H (người)
  - N Reaction Buffer
  - N Diluent
  - N Supplementary Reagent/Precipitation

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

Mẫu thích hợp là mẫu huyết thanh và huyết tương heparin, mẫu càng mới càng tốt (lưu tại nhiệt độ 2 đến 8 °C không quá 7 ngày) hoặc mẫu được trữ đông. Mẫu có thể được lưu dưới -20 °C đến 3 tháng, nếu mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu và cần tránh chu trình kết đông-xả đông. Mẫu huyết thanh phải được đông lại hoàn toàn và, sau khi ly tâm, không được chứa hạt nào hoặc dấu vết của fibrin. Mẫu máu nhiễm mỡ bị đục sau khi đã đông cần phải được làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại tốc độ 15,000 x g) trước khi thực hiện xét nghiệm.

### **2. Tiến hành kỹ thuật**

#### **2.1. Cách vận hành**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm RbP. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm RbP.

Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm RbP 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.

## **2.2. Thành lập đường cong hiệu chuẩn**

Đường cong hiệu chuẩn được thành lập bởi hiệu chuẩn nhiều điểm. Một chuỗi các pha loãng của N Protein Standard SL được thực hiện tự động bởi máy sử dụng N Diluent. Các chất hiệu chuẩn pha loãng này được sử dụng trong vòng 4 giờ. Đường chuẩn này có hiệu lực khi chất kiểm chuẩn, như N/T Protein Controls SL/L, M và H, được lặp lại trong khoảng tin cậy tương ứng. Cần thiết lập đường chuẩn mới khi một lô thuốc thử mới được sử dụng.

## **2.3. Mẫu xét nghiệm**

Mẫu được pha loãng tự động 1:5 với N Diluent. Mẫu pha loãng cần được đo trong vòng 4 giờ. Nếu kết quả thu được nằm ngoài khoảng đo, cần chạy lại mẫu với độ pha loãng cao hơn.

## **2.4. Nội kiểm**

Chạy N/T Protein Controls SL/L, M và H sau khi thiết lập mỗi đường cong hiệu chuẩn, trước lần sử dụng đầu tiên của một lọ thuốc thử cũng như với mỗi lần chạy các mẫu huyết thanh và huyết tương. Chất kiểm chuẩn cũng được thực hiện và đánh giá kết quả tương tự như mẫu người bệnh.

Cần tuân theo các qui định hiện hành hoặc các yêu cầu về quản lý chất lượng cho tần suất chạy nội kiểm. Cần thực hiện lại nếu một kết quả của kiểm chuẩn nằm ngoài khoảng tin cậy. Nếu kết quả chạy lại xác nhận sự sai lệch, cần thiết lập một đường chuẩn mới. Không báo cáo kết quả khi nguyên nhân của sự sai lệch chưa được xác định và hiệu chỉnh.

# **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Đánh giá được thực hiện tự động theo g / L hoặc trong một đơn vị được người sử dụng lựa chọn trên hệ thống BN.

Khoảng tham chiếu:

Khoảng tham chiếu áp dụng cho mẫu huyết thanh và huyết tương người khỏe mạnh:

RbP: 0.03 - 0.06 g/L

# **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi nồng độ triglycerid  $\leq 4.6$  g/L, bilirubin  $\leq 0.6$  g/L và hemoglobin tự do  $\leq 10$  g/L.

- Xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi các loại thuốc thông thường.
- Mẫu bệnh phẩm đục có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm, do vậy mẫu cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm bằng cách ly tâm (10 phút tại 15,000 x g).

Nhận định kết quả xét nghiệm luôn cần được giải thích kết hợp cùng với tiền sử bệnh lý và biểu hiện lâm sàng trên người bệnh

# **ĐỊNH LƯỢNG RENIN MÁU BẰNG KỸ THUẬT ELISA**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Renin được định lượng bằng kỹ thuật ELISA kiểu sandwich .

Kháng thể đơn dòng của chuột đặc hiệu với rennin được phủ trên đĩa 96 giếng. Các dung dịch chuẩn và mẫu thử được thêm vào các giếng, kháng thể đa dòng của dê kháng rennin gắn với biotin được thêm vào; tiếp theo là rửa bởi đệm muối phosphate. Phức hợp avidin-biotin-peroxidase được thêm vào, các thành phần không gắn bị loại bỏ bằng rửa bởi đệm muối phosphate. Cơ chất TMB được thêm vào, peroxidase xúc tác chuyển TMB thành sản phẩm màu xanh da trời. Khi cho dung dịch acid để dừng phản ứng, màu chuyển sang vàng. Độ đậm màu vàng tỷ lệ thuận với nồng độ rennin trong mẫu thử.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

- Hệ thống ELISA (máy ủ, máy rửa và máy đọc).
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu
- Kit định lượng rennin
- Vật liệu kiểm tra chất lượng (QC 1,2)
- Pipet
- Ống nghiệm
- Nước cất

**3. Người bệnh:** Người bệnh và người nhà người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm:**

- Huyết thanh, huyết tương chống đông EDTA hoặc heparin.
- Lấy máu tĩnh mạch và để tạo cục đông trước khi ly tâm lấy huyết thanh.

- Không sử dụng bệnh phẩm có bọt, có fibrin hoặc các chất dạng hạt.
- Bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C được 24h, bảo quản lâu hơn ở -20°C.
- Chỉ rã đông bệnh phẩm một lần và trộn kỹ bệnh phẩm sau khi rã đông.

## 2. Tiến hành kỹ thuật:

- Ly tâm ống máu trong 15 phút với vận tốc 1500xg / phút.
- Tách huyết thanh/ huyết tương.
- Tiến hành các bước kỹ thuật theo quy trình của nhà sản xuất
- Tính kết quả sau khi hoàn tất quá trình phân tích dựa vào các dung dịch chuẩn.
- Kiểm soát chất lượng:

Chạy các mức QC mỗi khi thực hiện xét nghiệm. Tất cả các kết quả kiểm tra chất lượng phải được ghi lại trong bảng theo dõi QC. Chỉ thông báo kết quả xét nghiệm nếu QC nằm trong khoảng cho phép.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### 1. Giá trị tham chiếu:

Giá trị tham chiếu:

| Loại mẫu            | Trung bình<br>(pg/mL) | Khoảng tham<br>chiếu (pg/mL) | Độ lệch chuẩn<br>(pg/mL) |
|---------------------|-----------------------|------------------------------|--------------------------|
| Huyết thanh         | 776                   | 232- 1892                    | 374                      |
| Huyết tương EDTA    | 726                   | 201- 1852                    | 365                      |
| Huyết tương heparin | 680                   | 179- 1760                    | 349                      |

### 2. Ý nghĩa lâm sàng:

Định lượng renin có ý nghĩa quan trọng trong đánh giá các người bệnh tăng huyết áp. Đặc biệt việc định lượng rennin giúp chẩn đoán bệnh tăng huyết áp do cường aldosteron tiên phát (55-13% các trường hợp tăng huyết áp) và hỗ trợ điều trị và theo dõi các dạng tăng huyết áp khác.

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

# **ĐỊNH LƯỢNG RENIN MÁU THEO KỸ THUẬT HÓA PHÁT QUANG**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Renin có trọng lượng phân tử khoảng 42 kDa, chủ yếu được tổng hợp bởi các tế bào cận cầu thận (juxtaglomerular cell) và được lưu trữ ở dạng hạt như prorenin (tiền renin) và renin. Nó được sản xuất để đáp ứng với các tình trạng của cơ thể như thể tích máu và huyết áp giảm, giảm nồng độ natri...

Renin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ miễn dịch hóa phát quang (CLIA - Chemiluminescence Immunoassay).

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

- Máy móc: LIAISON...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng Renin, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng Renin.

**3. Người bệnh:** Người bệnh và người nhà người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm:**

Chỉ dùng mẫu huyết tương EDTA trong xét nghiệm định lượng Renin. Nếu sử dụng huyết thanh, huyết tương heparin và huyết tương citrate sẽ làm giá trị renin thấp hơn.

Cần thận trọng trong quá trình chuẩn bị và lấy mẫu bệnh phẩm để có kết quả định lượng Renin tin cậy:

Nhịn ăn trước khi lấy máu được khuyến khích nhưng không bắt buộc.



Mẫu được lấy trong khoảng từ 07:00 đến 10:00 sáng, người bệnh ở tư thế hoặc đứng thẳng hoặc nằm ngửa ít nhất được 30 phút.

Lấy máu tĩnh mạch ở nhiệt độ phòng rồi cho vào ống có chứa chất chống đông EDTA. Ghi lại thời gian lấy máu trong ngày và tư thế của người bệnh trong quá trình lấy máu (nằm ngửa, đứng thẳng).

Ông máu không cần làm lạnh chỉ cần để ở nhiệt độ phòng. Nếu mẫu được làm lạnh đến nhiệt độ 4 ° C hoặc thấp hơn (nhưng không đông) trong thời gian dài và khi mẫu được ướp lạnh nhưng không đông lạnh thì prorenin bị kích hoạt để tạo ra renin làm sai lệch kết quả xét nghiệm.

Ly tâm ông máu với máy ly tâm thường 4000 vòng/5 phút (không phải ly tâm lạnh), sau đó tách huyết tương (Thể tích tối thiểu cho 1 xét nghiệm là 505 µL huyết tương). Cần phân tích mẫu ngay, nếu với bất cứ lý do gì mà việc phân tích mẫu không thực hiện được ngay thì cần làm đông sâu mẫu ở -20 ° C hoặc thấp hơn ngay lập tức.

Cần thận rã đông trước khi xét nghiệm, kiểm tra và loại bỏ các bọt khí trước khi xét nghiệm. Nên thực hiện việc định lượng Renin ngay sau khi đã rã đông và nạp mẫu vào máy. Chỉ rã đông 1 lần.

## **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 Renin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Renin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Renin 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).

- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## **IV.NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ Giá trị tham chiếu của Renin áp dụng cho các đối tượng:

Người lớn từ 18- 65 tuổi, có huyết áp bình thường và mức đường huyết lúc đói bình thường. Không áp dụng cho người dưới 18 tuổi; có chế độ ăn uống hạn chế; mang thai; cho con bú; sử dụng thuốc tránh thai.

Giá trị tham chiếu : Tư thế đứng 4,4 - 46,1 µIU/ mL

Tư thế nằm 2,8 - 39,9 µIU / mL

Nồng độ Renin thay đổi trong các trường hợp sau

+ Nồng độ Renin tăng:

- Tăng Aldosterone thứ phát
- Bệnh Addison

- Nồng độ natri trong máu thấp
- Suy thận mãn tính
- Mất muối do bệnh đường tiêu hóa
- Khô u thận sản xuất Renin
- Hẹp động mạch thận
- Hạ kali máu
- Hội chứng Bartter (nồng độ renin cao mà không có tăng huyết áp).

+ Nồng độ Renin giảm:

- Tăng Aldosterone nguyên phát
- Giữ muối do điều trị steroid
- Điều trị bằng Vasopressin (ADH).
- Tăng sản thượng thận bẩm sinh do thiếu 17-hydroxylase

#### V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Lấy máu không đúng kỹ thuật như gây vỡ hồng cầu. Khắc phục: Huấn luyện cán bộ có kỹ năng lấy máu thuần thục.

- Luôn nhớ không làm lạnh mẫu trừ khi đông sâu mẫu ngay.

+ Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Các nghiên cứu về khả năng ảnh hưởng của các yếu tố nhiễu cho thấy việc thực hiện xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi nồng độ bilirubin lên đến 20 mg/dL, hemoglobin lên đến 1000 mg/dL hoặc triglycerides lên đến 3000 mg/dL.

Phản ứng chéo: Sự hiện diện của các phân tử có khả năng phản ứng chéo sau đây gây nhiễu trong xét nghiệm

| Thành phần          | Nồng độ lên đến ( $\mu\text{g/mL}$ ) | % Phản ứng chéo |
|---------------------|--------------------------------------|-----------------|
| Beta2-microglobulin | 50                                   | – 7,0           |
| Cathepsin D         | 1,5                                  | – 6,9           |
| Trypsin             | 1,6                                  | – 4,2           |
| Plasmin             | 100                                  | 0,8             |

Bất cứ khi nào mẫu có chứa nồng độ cao chất cần phân tích đều có thể bị ảnh hưởng của hiệu ứng Hook khiến nồng độ có thể thấp hơn so với thực tế. Không có hiệu ứng Hook khi nồng độ Renin lên đến tối đa là 150.000  $\mu\text{IU} / \text{mL}$ .

# **ĐỊNH LƯỢNG SAA (SERUM AMYLOID A) MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

SAA là một protein giai đoạn cấp tính trong đáp ứng viêm, nhiễm trùng cũng như các quá trình không viêm nhiễm, nồng độ trong máu tăng mạnh trong vòng vài giờ sau bị bệnh. Mức tăng nồng độ có thể đạt tới 1000 lần nồng độ ban đầu. SAA kết hợp với lipoprotein tỉ trọng cao (HDL) và có thể làm thay đổi sự trao đổi chất của chúng trong suốt quá trình viêm. Một điều đặc biệt quan trọng của SAA là sản phẩm thoái hóa của chính nó có thể tích tụ tại nhiều cơ quan khác nhau như các vi sợi Amyloid A (AA), gây nên biến chứng nghiêm trọng trong các bệnh viêm mạn tính.

Các hạt polystyrene được phủ kháng thể đặc hiệu kháng SAA người sẽ ngưng kết khi được trộn lẫn với mẫu có chứa SAA. Các hạt ngưng kết này làm phân tán chùm ánh sáng chiếu xuyên qua mẫu. Cường độ ánh sáng phân tán tỉ lệ thuận với nồng độ của protein tương ứng trong mẫu. Kết quả được xác định bằng cách so sánh với một chuẩn đã biết nồng độ.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện:**

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy có thể phân tích: BN ProSpec
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

#### **2.2. Hoá chất**

Hóa chất chính định lượng SAA: Đóng gói ở dạng đông khô, 3 x → 2 mL. Khi sử dụng cần hoàn nguyên theo cách: Hoàn nguyên với 2mL nước cất. Thuốc thử có thể được sử dụng sau khi hoàn nguyên 15 phút. Lắc nhẹ trước khi sử dụng lần đầu.

Chất chuẩn: Đóng gói: Dạng đông khô, 3 x → 0.5 mL. Khi sử dụng cần hoàn nguyên theo cách: Hòa tan bột đông khô với 0.5 mL nước cất. Lắc nhẹ nhàng để trộn đều. Có thể sử dụng sau khi hoàn nguyên 60 phút.

Chất kiểm tra chất lượng: Dạng đông khô, 4 x → 0.5 mL. Khi sử dụng cần hoàn nguyên theo cách: Hòa tan bột đông khô với 0.5 mL nước cất. Lắc nhẹ nhàng để trộn đều. Có thể sử dụng sau khi hoàn nguyên 60 phút.

Thuốc thử ổn định ở 2 đến 8 °C cho đến ngày hết hạn trên nhãn hộp thuốc. Sau khi mở hộp thuốc/ hoàn nguyên ổn định trong 4 tuần. Không được để đông.

Độ ổn định trên máy: Ít nhất là 5 ngày với mỗi 8 tiếng/ ngày, hoặc khoảng thời gian tương ứng.

### **3. Người bệnh:**

Người bệnh và người nhà người bệnh cần được chuẩn bị và giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm:**

Mẫu thích hợp là mẫu huyết thanh và huyết tương heparin, mẫu càng mới càng tốt.

Chỉ ly tâm tách mẫu huyết thanh khi máu đã đông hoàn toàn và sau khi ly tâm, không được chứa hạt hoặc dấu vết của fibrin. Mẫu máu nhiễm mỡ bị đục sau khi đã đông cần phải được làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại tốc độ 15,000 x g) trước khi thực hiện xét nghiệm.

Mẫu có thể ổn định tại nhiệt độ 2 đến 8 °C không quá 7 ngày. Mẫu có thể được lưu dưới -25 °C đến 3 tháng nếu mẫu được trữ đông trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu. Không đông / rã đông nhiều lần.

### **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 SAA. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm SAA. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm SAA 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).

- Thực hiện xét nghiệm 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**

Với nhóm người có CRP huyết thanh ở mức bình thường (5.0 mg/L) thì giá trị tham chiếu của SAA là 6.4 mg/L.

Giống như Protein phản ứng C (CRP), xác định SAA rất hữu ích trong chẩn đoán các quá trình viêm, đánh giá hoạt động của chúng cũng như theo dõi các quá trình này và cách điều trị. Tuy nhiên, xét nghiệm SAA cho nhiều kết luận hơn so với CRP

ở những người bệnh nhiễm virus, phản ứng thải bỏ với ghép thận (đặc biệt đối với người bệnh suy giảm miễn dịch) cũng như ở người bệnh xơ nang điều trị với corticoids. Trong trường hợp người bệnh viêm khớp, SAA được ghi nhận là có mối tương quan mật thiết với hoạt động của căn bệnh này. Xác định đồng thời hai chỉ số CRP và SAA có thể làm tăng độ nhạy cho chẩn đoán. Đối với người bệnh mắc bệnh thoái hóa dạng tinh bột, tình trạng bệnh có thể được cải thiện bởi liệu pháp giúp đưa mức SAA trở về giá trị bình thường.

Kết quả xét nghiệm luôn cần được giải thích kết hợp cùng với tiền sử bệnh lý, biểu hiện lâm sàng và các ghi nhận khác. Do ảnh hưởng bởi chất nền, các mẫu khảo sát liên phòng xét nghiệm và các mẫu kiểm chuẩn có thể cho kết quả khác so với phương pháp khác. Do đó, cần đánh giá kết quả trong mối tương quan với giá trị mục tiêu cụ thể của phương pháp.

#### **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi nồng độ triglycerides lên đến 20 g/L, bilirubin 0.6 g/L và hemoglobin tự do đến 10 g/L.

Sự đục và các hạt trong mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm; do đó, đối với các mẫu có chứa các hạt cần được ly tâm làm trong trước khi thực hiện xét nghiệm.

Không sử dụng các mẫu máu bị đục mà không thể làm trong bằng cách ly tâm (10 phút tại 15,000 x g).

# ĐỊNH LƯỢNG SALICYLATE

## TỔNG QUAN:

Salicylate và các dẫn xuất của nó thuộc nhóm thuốc chống viêm giảm đau được sử dụng khá rộng rãi trên lâm sàng. Việc sử dụng với liều lượng lớn và dùng cho trẻ nhỏ có thể gây ngộ độc. Ngộ độc salicylate có thể gây rối loạn hệ thống thần kinh trung ương, hệ thống tiêu hóa dạ dày, ruột hay suy thận. Quá liều salicylate là một cấp cứu nội khoa và cần thiết phải xác định nhanh, kịp thời nồng độ salicylate trong máu

## I. NGUYÊN LÝ

Phương pháp enzymatic

Salicylate hydroxylase xúc tác quá trình chuyển salicylate và NADH thành catechol và  $\text{NAD}^+$  với sự tham gia của oxy ở bước sóng 340 nm. Sự giảm nồng độ NADH thành NAD liên quan trực tiếp với nồng độ salicylate trong bệnh phẩm

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện:

- 1 cán bộ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả;
- 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

### 2. Phương tiện và hóa chất:

#### 2.1. Phương tiện:

- Máy xét nghiệm hóa sinh tự động
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

#### 2.2. Hóa chất:

- Hóa chất định lượng salicylate
- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng, dung dịch hệ thống

### 3. Người bệnh: cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### 4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm:

Mẫu bệnh phẩm có thể là huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch. Ly tâm 3000 vòng/ phút trong 5 phút, tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương. Huyết thanh hoặc huyết tương có thể lưu giữ 14 ngày ở nhiệt độ 4-8 °C, 6 tháng ở -20 °C

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- **KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG:** việc thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 2 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **Giá trị tham chiếu:**

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh.
- Liều điều trị: 15-30 mg/dL (1.09-2.17 mmol/L)

Liều ngộ độc: > 30 mg/dL (> 2.17 mmol/L)

Gây tử vong: > 70 mg/dL (> 5.07 mmol/L)

- Phục vụ mục đích chẩn đoán, kết quả còn được dựa trên tiền sử sử dụng thuốc của người bệnh, các thăm khám lâm sàng và cận lâm sàng khác

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Tuyến tính từ 5.0-100.0 mg/dL
- Với các trường hợp huyết thanh vàng, vỡ hồng cầu hay đục, kết quả có thể giảm 7.5%

# **ĐỊNH LƯỢNG SẢN PHẨM CHUYỂN HÓA CỦA NICOTINE**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Việc phát hiện hút thuốc bằng cách định lượng các chất chuyển hóa của nicotine như cotinine hay được sử dụng hơn định lượng các chất khác như carboxyhemoglobin hoặc thiocyanate. Lý do một phần là vì cotinine và các chất chuyển hóa khác của nicotine là đặc trưng cho thuốc lá, trong khi carboxyhemoglobin và thiocyanate có thể là kết quả của việc tiếp xúc với các yếu tố môi trường khác. Hơn nữa, cotinine và các chất chuyển hóa khác của nicotine có thời gian bán thải trong máu lâu hơn 10 giờ, trong khi bản thân nicotine và carboxyhemoglobin có thời gian bán thải ngắn hơn nhiều.

Các sản phẩm chuyển hóa của Nicotine được định lượng theo nguyên lý xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang cạnh tranh.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy có thể phân tích: IMMULITE 1000 và một số máy miễn dịch khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyển mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

#### **2.2. Hoá chất**

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử định lượng các sản phẩm chuyển hóa của nicotin. Chất chuẩn, Chất kiểm tra chất lượng các sản phẩm chuyển hóa của nicotin.

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người, người nhà người bệnh bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm:**



Bệnh phẩm dùng cho xét nghiệm định lượng các sản phẩm chuyển hóa của nicotin có thể là huyết thanh hoặc nước tiểu.

- **Huyết thanh:** Lấy 3ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông. Sau đó ly tâm 4000 vòng/ 5 phút để tách lấy huyết thanh. Chỉ ly tâm tách huyết thanh khi đã hình thành cục máu đông. Ly tâm các mẫu huyết thanh trước khi hình thành cục máu đông hoàn toàn có thể dẫn đến sự xuất hiện tơ huyết.

- **Nước tiểu:** Không sử dụng chất bảo quản khi lấy mẫu nước tiểu. Nước tiểu phải được làm trong bằng cách lọc hoặc ly tâm trước khi sử dụng. Tách riêng phần nước tiểu phía trên khỏi cặn lắng và trộn bằng cách lắc nhẹ.

Pha loãng mẫu nước tiểu: Các mẫu nước tiểu dương tính phải được pha loãng thủ công theo tỷ lệ 1/41 bằng Multi-Diluent 2, ví dụ: thêm 25  $\mu$ L mẫu nước tiểu vào 1,0 mL chất pha loãng đã được pha loãng trước (Để pha loãng các mẫu nước tiểu dương tính theo cách thủ công. Sử dụng lọ chứa chất nền dung dịch đệm/protein không phải của người, đậm đặc (2,5 lần), có chất bảo quản. Trước khi sử dụng, pha loãng dung dịch đậm đặc theo tỷ lệ 1/2,5 bằng nước cất, ví dụ: thêm 1 phần chất pha loãng đậm đặc vào 1,5 phần nước cất).

Kết quả của mẫu đã pha loãng phải được nhân với hệ số pha loãng để thu được nồng độ cotinine cuối cùng.

Bảo quản: 30 ngày ở 2–8°C. Để bảo quản lâu hơn, đông đá ở -20°C. Tránh lặp lại nhiều lần các chu kỳ đông đá/rã đông.

## 2. Tiến hành kỹ thuật

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm nicotine metabolite. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm nicotine metabolite. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm nicotine metabolite 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).
- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

### Giá trị tham chiếu:

Huyết thanh  $\geq 25$  ng/mL, Nước tiểu  $\geq 500$  ng/mL có thể được sử dụng để phân biệt người hút thuốc lá với người không hút thuốc lá.

Đối với mục đích chẩn đoán, các kết quả có được từ xét nghiệm này cần được sử dụng kết hợp với thăm khám lâm sàng, bệnh sử của người bệnh và các phát hiện khác.

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

- Ly tâm các mẫu huyết thanh trước khi hình thành cục máu đông hoàn toàn có thể dẫn đến sự xuất hiện tơ huyết. Để ngăn ngừa trường hợp kết quả sai do sự xuất hiện tơ huyết, hãy đảm bảo quá trình hình thành cục máu đông hoàn toàn đã diễn ra trước khi ly tâm các mẫu. Một số mẫu, đặc biệt là các mẫu từ người bệnh được điều trị bằng thuốc chống đông máu, có thể cần có thời gian lâu hơn để máu đông.

Việc sử dụng một máy siêu ly tâm được khuyến nghị để loại bỏ các mẫu có tăng lipid huyết.

Các mẫu bị tan huyết không được sử dụng và yêu cầu lấy lại bằng mẫu khác.

Ổng thu thập máu của các nhà sản xuất khác nhau có thể cho ra những giá trị khác nhau, tùy thuộc vào vật liệu và phụ gia, bao gồm gel hoặc các rào cản vật lý, chất hoạt hóa đông máu và/hoặc thuốc chống đông máu.

- Kháng thể dị ái trong huyết thanh người có thể phản ứng với các globulin miễn dịch có trong các thành phần của xét nghiệm gây nhiễu các xét nghiệm miễn dịch.

- Các mẫu của các người bệnh tiếp xúc thường xuyên với động vật hoặc các sản phẩm huyết thanh động vật có thể có biểu lộ loại nhiễu này có khả năng gây ra kết quả bất thường. Những thuốc thử này đã được tạo ra để giảm thiểu nguy cơ bị nhiễu; tuy nhiên, có thể xảy ra các tương tác có khả năng xảy ra giữa huyết thanh hiếm gặp và các thành phần xét nghiệm.

# ĐỊNH LƯỢNG SIROLIMUS MÁU

## I. NGUYÊN LÝ

Sirolimus (Rapamune, rapamycin, Wyeth Pharmaceuticals, Collegeville, PA) là thuốc ức chế miễn dịch dùng cho điều trị ức chế miễn dịch ở người bệnh cấy ghép thận. Sirolimus là sản phẩm lên men macrocyclic lactone của *Streptomyces hygroscopicus*, được phát hiện lần đầu ở Rapa Nui (Đảo Phục sinh). Nghiên cứu được động học chỉ ra sirolimus được cô lập chủ yếu trong tế bào hồng cầu, do vậy mẫu thích hợp để theo dõi sirolimus là máu toàn phần.

Xét nghiệm ARCHITECT Sirolimus là xét nghiệm miễn dịch trễ một bước để định lượng sirolimus trong máu toàn phần người sử dụng công nghệ CMIA với quy trình xét nghiệm linh hoạt, còn gọi là Chemiflex.

Trước khi thực hiện định lượng tự động trên ARCHITECT, cần tiến hành bước tiền xử lý thủ công, mẫu máu toàn phần được chiết tách với thuốc thử kết tủa, làm nóng và ly tâm. Chất nổi bề mặt được gạn vào ống Transplant Pretreatment Tube, sau đó đặt vào hệ thống ARCHITECT iSystem.

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện:

- 1 cán bộ đại học, 1 kỹ thuật viên chuyên ngành hóa sinh.

### 2. Phương tiện, hóa chất:

- Máy móc: Architect i2000. i4000...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu: Bông cotton, bơm tiêm, ống đựng máu, găng tay
- Hóa chất: Hóa chất định lượng Sirolimus, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng Sirolimus.

### 3. Người bệnh:

Người bệnh cần được chuẩn bị và 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:

- Xét nghiệm sử dụng máu toàn phần lấy vào ống có chất chống đông EDTA.
- Bệnh phẩm (mẫu máu toàn phần) ổn định < 7 ngày ở nhiệt 2-8°C, sau 7 ngày cần bảo quản mẫu ở nhiệt độ  $\leq -10^{\circ}\text{C}$ .

- Không nên lặp lại quá trình đông lạnh/rã đông. Nếu bệnh phẩm đã đông phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng và trộn đều để đảm bảo tính đồng nhất của mẫu trước khi phân tích.

- Mẫu có nồng độ sirolimus > 30 ng/mL có thể pha loãng bằng tay với độ pha loãng gợi ý 1:2. Mẫu phải được pha loãng trước khi tiến xử lý:

- Thêm 150  $\mu$ L mẫu bệnh phẩm vào 150  $\mu$ L ARCHITECT Sirolimus Calibrator A, sau đó thực hiện theo Quy trình tiền xử lý thủ công.
- Người vận hành phải nhập hệ số pha loãng vào màn hình đặt lệnh Mẫu chứng (Control) hay Bệnh phẩm (Patient). Hệ thống sẽ sử dụng hệ số pha loãng này để tự động tính nồng độ mẫu trước khi pha loãng và báo cáo kết quả. Kết quả nên lớn hơn > 3,0 ng/mL trước khi áp dụng hệ số pha loãng.

## **2. Tiến hành kỹ thuật:**

Xét nghiệm Sirolimus yêu cầu có bước tiền xử lý bằng tay, qui trình cụ thể như sau:

1. Trộn đều mỗi mẫu (mẫu bệnh phẩm, mẫu chuẩn hay mẫu chứng) hoàn toàn bằng cách lắc đảo nhẹ nhàng các ống từ **5-10** lần.

Mẫu máu toàn phần đã để lâu sẽ phải trộn trong thời gian lâu hơn. Nên kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo mẫu đã được trộn thích hợp.

**2. Dùng pipette hút chính xác 150  $\mu$ L** mỗi mẫu vào ống ly tâm XSYSTEMS hoặc ống ly tâm polypropylene tương đương (đáy tròn) ngay sau khi lắc trộn. Mỗi mẫu sử dụng một ống khác nhau.

**Lưu ý:** Phải sử dụng đầu pipette mới mỗi khi hút **150  $\mu$ L** mẫu ở mỗi ống. Không được lau đầu tip (đầu côn). Không được hút quá số lượng cần thiết. Không sử dụng lại đầu côn cho các lần chạy lặp lại.

Khuyến cáo không nên sử dụng loại pipette thay dương tính (positive displacement), không được làm ướt đầu pipette, và hút ngược, vì có thể gây ra lỗi và ảnh hưởng lớn đến độ không chính xác của xét nghiệm.

3a. Chính pipette hút chính xác **300  $\mu$ L** ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation Reagent từ chai có dán nhãn màu vàng.

3b. Thả **300  $\mu$ L** thuốc thử ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation vào ống ly tâm đầu tiên, với đầu tip chạm vào thành ống ly tâm.

**Lưu ý:** Mỗi ống phải được đập nắp và lắc trộn (vortex) ngay sau khi cho Thuốc thử Precipitation vào ống và trước khi cho Thuốc thử Precipitation vào các ống kế tiếp.

3c. **Đóng nắp** ống và lắc trộn (vortex) ngay lập tức.

3d. **Lắc trộn** mạnh từ **5-10** giây ngay sau khi đóng nắp ống tube.

(Cài đặt chế độ lắc trộn lớn nhất).

**Lưu ý:** Không thực hiện lắc trộn đúng cách sau khi thêm ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation Reagent sẽ làm sai kết quả xét nghiệm.

Cần quan sát bằng mắt thường để đảm bảo hỗn hợp mẫu với thuốc thử kết tủa đồng nhất. Dưới ống tube không nên còn lại phần nào chưa trộn lẫn.

Nếu vẫn còn phần chưa trộn lẫn dưới ống tube, lắc đảo ngược ống tube, gõ lên đáy ống và lắc trộn (vortex) lại. Đây là dấu hiệu của quá trình lắc trộn ban đầu không được thực hiện đúng cách. Lắc trộn ngay sẽ giảm thiểu thời gian hình thành khối kết tủa. Không phải tất cả máy vortex đều có thể thực hiện đúng cách.

Lặp lại quá trình "thêm, đóng nắp và lắc trộn" cho mỗi mẫu sau đó. Với mỗi ống, thực hiện nhất quán cùng thời gian lắc trộn và hoàn thành quá trình "thêm, đóng nắp và lắc trộn" trước khi thực hiện ống kế tiếp. Không hút ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation Reagent vào tất cả các ống một lần. Mỗi ống tube phải được đậy nắp và lắc trộn ngay sau khi thêm ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation Reagent vào ống và trước khi cho ARCHITECT Sirolimus Whole Blood Precipitation Reagent vào các ống kế tiếp.

4. Đặt mỗi ống vào khối nhiệt và chỉnh ở **42°C**. Ủ trong **10** phút và ly tâm ngay sau khi ủ.

**Lưu ý:** Ủ mẫu không đúng sẽ làm sai kết quả xét nghiệm.

5. Nạp mỗi ống tube vào máy ly tâm XSYSTEMS Centrifuge hoặc vi ly tâm tương ứng, chú ý sự thăng bằng của rotor. Có thể để thêm ống cân bằng, nếu cần. Chỉ ly tâm được cùng lúc khi số lượng ống tube là số chẵn.

Ly tâm các ống tối thiểu trong 4 phút ở tốc độ  $> 9500 \times g$  RCF, hoặc 38.500 g-phút.

6. Lấy từng ống ra khỏi máy ly tâm và kiểm tra sự hiện diện rõ của pellet và chất nổi bề mặt.

7. Mở nắp mỗi ống tube và gạn chất nổi bề mặt vào ống Transplant Pretreatment Tube khi ARCHITECT iSystem trong trạng thái sẵn sàng chấp nhận mẫu.

**Lưu ý:** Mỗi mẫu sử dụng một ống Transplant Pretreatment khác nhau.

Chỉ sử dụng ống Transplant Pretreatment Tubes (LN 1P06) khi thực hiện tiền xử lý mẫu sirolimus sử dụng cho ARCHITECT iSystem. Độ tin cậy của kết quả xét nghiệm ARCHITECT khác có thể bị ảnh hưởng nếu không sử dụng Transplant Pretreatment Tubes cho xét nghiệm ARCHITECT Sirolimus.

Không khuấy các viên nổi lên. Không hút chất nổi bề mặt vì nó sẽ giúp cho các pellet không bị khuấy động.

8. Lắc trộn ống Transplant Pretreatment Tube trong **5-10** giây.

9. Chuyển ống Transplant Pretreatment Tube vào giá đỡ mẫu ARCHITECT.

**Lưu ý:** Đặt ống Transplant Pretreatment Tube trên giá đỡ mẫu, để chạm vào đáy của giá đỡ. Loại bỏ các mẫu còn lại để thực hiện tiền xử lý sau khi xét nghiệm kết thúc.

Xét nghiệm ARCHITECT Sirolimus không thể đặt lệnh thực hiện xét nghiệm lại. Xét nghiệm lại yêu cầu thực hiện lại tiền xử lý thủ công.

- Để phân tích mẫu đã tiền xử lý thì trước đó máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Sirolimus. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Sirolimus. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Sirolimus 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 đã tiền xử lý vào máy phân tích.

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm.

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

#### **IV.NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

Khoảng nồng độ tối ưu cho sirolimus khác nhau phụ thuộc vào phương pháp xét nghiệm, vì vậy, nên thiết lập khoảng nồng độ riêng cho mỗi xét nghiệm theo phương pháp. Giá trị thu được từ các phương pháp xét nghiệm khác nhau không thể được sử dụng thay thế cho nhau do sự khác biệt về phương pháp và phản ứng chéo với các chất chuyển hóa, không áp dụng hệ số chuyển đổi. Phòng xét nghiệm nên ghi rõ phương pháp xét nghiệm sử dụng để hỗ trợ cho việc diễn giải kết quả.

Khoảng dao động tối ưu của nồng độ Sirolimus phụ thuộc và tình trạng lâm sàng người bệnh, độ nhạy khác nhau của cá thể và tác động phụ của sirolimus, sử dụng cùng chất ức chế miễn dịch khác, thời gian sau cấy ghép và một số các yếu tố khác. Vì vậy, giá trị sirolimus của cá thể không được sử dụng như dấu hiệu duy nhất cho quyết định thay đổi phác đồ điều trị, mỗi người bệnh nên được thực hiện đánh giá lâm sàng trước khi đưa ra quyết định thay đổi phác đồ điều trị. Mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập khoảng dao động nồng độ tối ưu dựa trên xét nghiệm cụ thể sử dụng và các yếu tố liên quan đến quần thể mẫu người bệnh.

#### **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Xét nghiệm bị nhiễu với những chất có nồng độ như sau:

| <b>Các chất có khả năng gây nhiễu</b> | <b>Nồng độ</b> |
|---------------------------------------|----------------|
| Triglycerides                         | 1500 mg/dL     |
| Hematocrit                            | ≤ 25%, ≥ 55%   |
| Bilirubin                             | 40 mg/dL       |
| Protein toàn phần                     | 3 g/dL         |
| Protein toàn phần                     | 12 g/dL        |
| Cholesterol                           | 500 mg/dL      |

Uric Acid

20 mg/dL

HAMA

14,5 - 340 ng/mL

RF

20,9 - 445 IU/mL.

## **ĐỊNH LƯỢNG $TNF\alpha$ (TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA)**

### **I. NGUYÊN LÝ**

Yếu tố hoại tử khối u  $\alpha$  (cachectin) và yếu tố hoại tử khối u  $\beta$  (lymphotoxin) là hai protein có liên quan mật thiết có tính tương đồng về trình tự chung nhau 34% ở trình tự axit amin. Cả hai chất trung gian hoạt động trên các tế bào đích thông qua cùng thụ thể và vì vậy cho thấy tác dụng sinh học tương tự, nhưng không giống nhau hoàn toàn. Dưới điều kiện không biến tính,  $TNF\alpha$  là một protein 17 kDa, không glycosyl hóa. Dạng có hoạt tính sinh học của  $TNF\alpha$  là một chất tam trùng phân. Bên cạnh dạng có thể hòa tan của  $TNF\alpha$ , dạng 28 kDa gắn kết màng có trên bề mặt của tế bào sản xuất TNF, dạng này có thể đóng vai trò như là một nguồn trữ  $TNF\alpha$  có thể hòa tan và có thể được cắt khỏi bề mặt tế bào theo cách thủy phân protein. Các tế bào sản sinh ra  $TNF\alpha$  như đại thực bào, tế bào T CD4+, ... Ngoài ra, tế bào cơ trơn, bạch cầu trung tính đa nhân, tế bào hình sao, tế bào mô mỡ, từ nội mạc mạch máu và nhiều dòng tế bào khối u khác có thể sản sinh ra  $TNF\alpha$ . TNF cũng được tạo ra từ đại thực bào trong cơ thể như một tiền hóc môn không hoạt động và được tổng hợp trong các tế bào giết tự nhiên, các tế bào u hắc tố, và một vài dòng tế bào ung thư.

Vì thụ thể  $TNF\alpha$  xuất hiện trên hầu hết các tế bào,  $TNF\alpha$  có nhiều hoạt động sinh học đa dạng như: tiêu tế bào, kìm các tế bào khối u và hoạt tính hóa hướng động ở các bạch cầu trung tính.  $TNF\alpha$  là một yếu tố tăng trưởng của nguyên bào sợi và kích thích việc tổng hợp collagenase và prostaglandin E2 sự tái hấp thụ xương có thể do  $TNF\alpha$  gây ra vì nó kích hoạt hủy cốt bào.  $TNF\alpha$  thúc đẩy việc phân chia của tế bào T sau khi kích thích bằng IL-2. Khi không có IL-2,  $TNF\alpha$  gây cảm ứng quá trình tăng sinh và biệt hóa của tế bào beta. Nồng độ của  $TNF\alpha$  trong huyết thanh hoặc huyết tương có thể tăng lên trong nhiễm trùng huyết, các bệnh tự miễn, nhiều bệnh nhiễm trùng khác nhau và thải loại mảnh ghép

#### **- Nguyên lý xét nghiệm**

$TNF\alpha$  là một xét nghiệm miễn dịch tự động, 2 chu kỳ và dựa trên nguyên lý hoá phát quang. Trong chu kỳ đầu tiên, mẫu được ủ với pha rắn là các hạt được phủ kháng thể kháng  $TNF\alpha$ , sản xuất từ chuột trong 30 phút. Sau đấy, rửa để loại bỏ mẫu cặn. Trong chu kỳ thứ 2, chất cộng hợp là kháng thể đa dòng kháng  $TNF\alpha$ , sản xuất từ thỏ được cho vào cóng phản ứng, để tạo nên phức hợp kháng thể-kháng nguyên-kháng thể. Sau đấy, rửa để loại bỏ phản ứng không đặc hiệu. Cuối cùng, cơ chất phát quang được thêm vào ống phản ứng và cường độ tín hiệu ánh sáng phát ra có thể đo được bằng bộ phận nhận 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 tỉ lệ thuận với cường độ ánh sáng thu được. Thời gian ra kết quả: 60 phút.

### **II. CHUẨN BỊ**



## **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

## **2. Phương tiện hóa chất**

### **2.1. Phương tiện**

- Máy miễn dịch tự động có thể phân tích: IMMULITE 1000, ...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm

### **2.2. Hoá chất**

#### **Hóa chất được cung cấp trong hộp thuốc**

- Hóa chất TNF $\alpha$  (pha rắn): các hạt được phủ kháng thể kháng TNF $\alpha$ , sản xuất từ chuột. Ổn định 2–8 °C cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp thuốc.
- Hóa chất TNF $\alpha$  (chất cộng hợp): kháng thể đa dòng kháng TNF $\alpha$ , sản xuất từ thỏ. Ổn định 2–8 °C cho đến ngày hết hạn ghi trên hộp thuốc.
- Chất hiệu chuẩn TNF $\alpha$  nồng độ thấp & nồng độ cao.

#### **Hóa chất cần thiết nhưng không được cung cấp trong hộp thuốc**

- QC các xét nghiệm Cytokine, 2 mức nồng độ, làm từ huyết thanh người
- Cơ chất hóa phát quang
- Dung dịch pha loãng mẫu (trong trường hợp nồng độ vượt quá khoảng tuyến tính)
- Dung dịch rửa kim hút
- Dung dịch làm sạch kim hút
- Giá chứa cốc đựng mẫu có barcode
- Cốc đựng mẫu (dùng 1 lần)
- Nắp cốc đựng mẫu (tùy chọn)

## **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

## **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như lithium heparin, EDTA,...
- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.
- Bệnh phẩm được tách huyết thanh, huyết tương để ổn định 2-8<sup>0</sup>C trong 2 ngày hoặc 6 tháng ở -20<sup>0</sup>C

## **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 TNF $\alpha$ . Máy đã được chuẩn với xét nghiệm TNF $\alpha$ . Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm TNF $\alpha$  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).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm theo protocol của máy.
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

- **Giá trị tham chiếu**

Cut-off: 8.1 pg/mL

- **Tăng trong trường hợp**

Nồng độ TNF trong huyết tương hoặc huyết thanh tăng cao có thể trong trường hợp nhiễm khuẩn huyết, bệnh tự miễn, các bệnh nhiễm trùng và đào thải ghép tạng.

Trong khi nồng độ TNF cao gây ra các triệu chứng giống sốc, tiếp xúc kéo dài với nồng độ TNF thấp có thể dẫn đến chứng suy nhược, hội chứng lãng phí. Điều này có thể được tìm thấy, ví dụ, ở bệnh nhân ung thư.

- **Giảm trong trường hợp**

Người bệnh đang dùng thuốc ức chế TNF như Infliximab, Etanercept..

## **V. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Mẫu sau khi được ly tâm cần được kiểm tra kỹ để không còn dấu vết của fibrin vì fibrin sẽ ảnh hưởng đến kết quả. Mẫu của người bệnh dùng thuốc chống đông có thể cần thời gian đông dài hơn. Mẫu không đảm bảo yêu cầu cần được loại bỏ và lấy mẫu bệnh phẩm mới để làm xét nghiệm.
- Mẫu bị tan huyết có thể do việc xử lý không đúng cách trước khi gửi tới phòng xét nghiệm do đó kết quả của mẫu cần được phân tích với sự cẩn trọng.

## ĐỊNH LƯỢNG TROPONIN I hs MÁU

### I. NGUYÊN LÝ

Troponin tim bao gồm Troponin I và Troponin T (truyền thống) là các dấu ấn sinh học có độ nhạy và độ đặc hiệu tốt hiện nay được sử dụng trong chẩn đoán hội chứng mạch vành cấp không có ST chênh lên. Tuy nhiên, với những người bệnh bị suy giảm chức năng thận, Troponin I có độ đặc hiệu cho tổn thương cơ tim cao hơn Troponin T. Ngưỡng chẩn đoán nhồi máu cơ tim (NMCT) của Troponin tim là nồng độ vượt qua ngưỡng bách phân vị thứ 99 của dân số tham chiếu bình thường ( $<10\%$  CV). Tuy nhiên các xét nghiệm troponin tim truyền thống không thể đo được Troponin tim ở nồng độ thấp tương ứng với giá trị bách phân vị thứ 99 tham chiếu của người bình thường. Vì vậy, xét nghiệm troponin tim siêu nhạy (High sensitive Troponin-I) được phát triển để đáp ứng được các yêu cầu và giải quyết được các hạn chế của troponin tim truyền thống.

Bệnh lý tim mạch thường gặp trên những người bệnh có rối loạn chức năng thận nặng, nên làm nồng độ Troponin tăng trên các người bệnh này dự báo những biến cố xấu về sau. Tuy nhiên, sự tăng Troponin này có thể không phải do tắc nghẽn mạch vành hay tiên lượng khả năng tử vong do hội chứng vành cấp. Ở người bệnh suy thận mạn đang lọc thận và không có triệu chứng mạch vành cấp, TnT dương tính khoảng 30-70%. TnI cũng tăng trong suy thận mạn nhưng ít hơn TnT ( $<5\%$ ), có thể là do trọng lượng phân tử nhỏ hơn.

Theo nghiên cứu của Twerenbold và cộng sự cho thấy ngay cả khi sử dụng xét nghiệm Troponin siêu nhạy, Troponin T cũng có khuynh hướng tăng nhiều hơn so với Troponin I trên các người bệnh có  $eGFR < 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ , khiến dễ nhầm lẫn với hội chứng vành cấp. Trong khi Troponin I siêu nhạy bị ảnh hưởng không đáng kể, còn Troponin T siêu nhạy dễ giảm thiểu ảnh hưởng của thận lên sự tăng Troponin cần chỉnh ngưỡng cắt lên gấp 2 lần

High sensitive Troponin-I là xét nghiệm miễn dịch hai bước để xác định sự hiện diện của cTnI trong huyết thanh và huyết tương người sử dụng công nghệ CMIA với quy trình xét nghiệm linh hoạt, Chemiflex.

**Bước 1:** mẫu, và vi hạt thuận từ phủ anti-troponin I được kết hợp lại. Troponin I tim có trong mẫu gắn với các vi hạt phủ anti-troponin-I.

**Bước 2:** Sau khi ủ và rửa, chất kết hợp anti-troponin-I có đánh dấu acridinium được cho vào

**Bước 3:** Tiếp theo một quá trình rửa khác, cho dung dịch Pre-Trigger và Trigger vào hỗn hợp phản ứng. Kết quả của phản ứng hóa phát quang được tính bằng đơn vị ánh sáng tương đối (RLU). Sự tương quan trực tiếp giữa lượng cTnI trong mẫu và RLU sẽ được bộ phận quang học trong máy phát hiện. Nồng độ của cTnI được đọc tương ứng với đường cong chuẩn được thiết lập với mẫu chuẩn nồng độ cTnI đã biết.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

01 cán bộ đại học có thẩm quyền ký kết quả. 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh hoặc người thực hiện phân tích có trình độ phù hợp, đã được đào tạo sử dụng máy hóa sinh tự động

### **2. Phương tiện hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy miễn dịch tự động Architect i 1000 SR; i 2000 SR
- Máy ly tâm,
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, ống sample cup

#### **2.2. Hóa chất**

- STAT High Sensitive Troponin-I Reagent Kit (Bộ thuốc thử) bao gồm:
  - + Microparticle (vi hạt từ): 1 Chai (6,6 mL/29,0 mL) Anti-troponin I (chuột, kháng thể đơn dòng) phủ trên vi hạt trong dung dịch đệm TRIS với chất ổn định protein (bò). Nồng độ tối thiểu: 0,035% rắn. Chất bảo quản: ProClin 300.
  - + Conjugate (chất gắn kết): 1 Chai (5,9 mL/28,5 mL) Anti-troponin I (kháng thể đơn dòng, thể khảm chuột-người) được đánh dấu Acridinium trong đệm MES với chất ổn định protein (bò) và IgG người. Nồng độ tối thiểu: 0,1 mg/L. Chất bảo quản: ProClin 300..
    - STAT High Sensitive Troponin-I Assay file.
    - STAT High Sensitive Troponin-I Calibrators
    - STAT High Sensitive Troponin-I Controls
    - Pre-Trigger Solution (Dung dịch tiền phản ứng)
    - Trigger Solution (Dung dịch phản ứng)
    - Wash Buffer (Dung dịch đệm rửa)
    - Reaction Vessels (Cống phản ứng)
    - Sample Cups (Cốc đựng mẫu)
    - Septum (Màng ngăn)
    - Replacement Caps (Nắp thay thế)
- Calibrator, IQC ở các mức khác nhau

### **3. Người bệnh**

Cần giải thích cho người bệnh và người nhà người bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.

- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm**

- Có thể sử dụng mẫu bệnh phẩm huyết thanh hoặc huyết tương. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc ống có chất chống đông thích hợp như lithium heparin, EDTA.

- Xử lý mẫu trước khi phân tích:

##### **+ Mẫu huyết thanh:**

ly tâm ở RCF 3,000 đến 3,500 x g trong 30 phút.

##### **+ Mẫu huyết tương:**

ly tâm ở RCF 13,000 đến 13,500 x g trong 30 phút hoặc ly tâm ở RCF 3,000 đến 3,500 x g trong 10 phút. Chuyển phần nổi trên bề mặt vào ống tube ly tâm mới, cẩn thận tránh chuyển các cục nhỏ fibrinogen, và ly tâm lại ở RCF 3,000 đến 3,500 x g trong 10 phút.

- Mẫu được tiến hành phân tích ngay theo quy trình.

##### **Bảo quản mẫu**

+ Mẫu tách riêng huyết thanh, huyết tương có thể được bảo quản đến 8 giờ ở nhiệt độ phòng hay đến 24 giờ ở 2-8°C. hoặc 72 ngày khi bảo quản đông lạnh ở -10°C.

+ Chỉ rã đông mẫu một lần.

#### **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 Troponin I hs. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Troponin I hs. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Troponin I hs 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**

#### **1.1. Giá trị tham chiếu**

Có sự khác biệt giữa nam và nữ:

Với nam giới là:  $\leq 34.2$  ng/L (pg/mL). ở nữ là  $\leq 15,6$  ng/L (ng/L)

#### **1.2. Tăng trong trường hợp**

- Tổn thương do thiếu máu cơ tim nguyên phát (NMCT type 1)
- Tổn thương do mất cân bằng cung/cầu ôxy cơ tim (NMCT type 2)
- Tổn thương không liên quan thiếu máu cơ tim
- Tổn thương cơ tim do đa yếu tố hay không xác định được

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Không sử dụng mẫu bệnh phẩm máu bị vỡ hồng cầu, cần loại bỏ và lấy lại mẫu khác

- Nếu thời gian thực hiện xét nghiệm  $\geq 2$  giờ kể từ khi lấy mẫu bảo quản trong tủ lạnh hay tủ đông, các nghiên cứu đã chứng minh được độ khác nhau trung bình  $< 20\%$ . ở nồng độ được quan sát trong điều kiện sau:

+ Có hoặc không có huyết khối, hồng cầu hay gel phân tách ở nhiệt độ  $2-8^{\circ}\text{C}$  từ 24 đến 72 giờ.

+ Không có huyết khối, hồng cầu hay gel phân tác đông lạnh ở nhiệt độ  $-10^{\circ}\text{C}$  hoặc thấp hơn đến 31 giờ.

- Mẫu huyết tương có thể được bảo quản ở nhiệt độ  $-70^{\circ}\text{C}$  hoặc lạnh hơn ổn định đến 5 năm.

## **ĐỊNH LƯỢNG UIBC (Unsaturated Iron Binding Capacity) MÁU**

### **Bảng viết tắt:**

UIBC - khả năng liên kết sắt không bão hòa

### **I. NGUYÊN LÝ**

Thông thường, sắt được hấp thụ từ thức ăn và vận chuyển khắp cơ thể nhờ transferin. Transferin được sản xuất tại gan. Khoảng 70% sắt được vận chuyển đến tủy xương và kết hợp với Hemoglobin trong hồng cầu. Phần còn lại được lưu trữ tại ferritin hoặc hemosiderin. Lượng transferin trong máu phụ thuộc vào chức năng gan và tình trạng dinh dưỡng. Trong điều kiện bình thường, 1/3 transferin được bão hòa sắt, 2/3 còn lại được lưu trữ tại các mô. UIBC xác định khả năng dự trữ của transferin, tức là phần transferin chưa được gắn với sắt. UIBC có thể đo trực tiếp hoặc tính toán gián tiếp qua TIBC (khả năng kết hợp sắt toàn phần) và sắt:  $UIBC = TIBC - \text{sắt}$

$Fe^{2+}$  trong thuốc thử 1 phản ứng với Nitroso-PSAP trong thuốc thử 2 tạo thành 1 phức hợp màu xanh. Nếu thêm bệnh phẩm vào, toàn bộ hoặc một phần ion sắt sẽ kết hợp với transferin tại vị trí kết hợp không bão hòa trong môi trường kiềm. Nó làm thay đổi phản ứng màu với Nitroso-PSAP. Sự thay đổi mật độ quang đo được tỷ lệ với UIBC.

### **II. CHUẨN BỊ**

#### **1. Người thực hiện:**

1 người có trình độ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả; 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

#### **2. Phương tiện và hóa chất:**

##### **2.1. Phương tiện:**

- Máy xét nghiệm hóa sinh tự động
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

##### **2.2. Hóa chất:**

- Hóa chất định lượng của các công ty có thể đáp ứng yêu cầu VD: Beckman Coulter, ...
- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng, dung dịch hệ thống của Beckman Coulter

**3. Người bệnh:** cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện

- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III.CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1.Lấy bệnh phẩm:**

Mẫu bệnh phẩm có thể là huyết thanh hoặc huyết tương. Không sử dụng ống chống đông bằng EDTA, oxalat, citrat. Lấy 3 ml máu tĩnh mạch. Ly tâm 3000 vòng/phút trong 5 phút, tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương ngay khi có thể. Bệnh phẩm bảo quản ở 2-8<sup>0</sup>C trong 3 tuần, 15-25<sup>0</sup>C trong 7 ngày. Không được vỡ hồng cầu. Bệnh phẩm lấy lúc đói

#### **2.Tiến hành kỹ thuật**

- KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG: việc thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 2 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

### **IV.NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

#### **1.Khoảng tham chiếu:**

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh.
- Người lớn trưởng thành:  
Bình thường trong huyết thanh hoặc huyết tương: 27.8 – 63.6  $\mu\text{mol/L}$  (155 – 355  $\mu\text{g/dL}$ )

#### **2.Tăng trong:** Thiếu sắt

#### **3. Giảm trong:** Hemochromatosis, thiếu máu huyết tán hoặc một số bệnh mạn tính, suy dinh dưỡng, bệnh thận, hội chứng thận hư ...

### **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Tuyến tính từ 10 đến 100  $\mu\text{mol/L}$  (55-550  $\mu\text{g/dL}$ ). Cần pha loãng bệnh phẩm nếu vượt ngưỡng này.
- Kết quả có thể bị ảnh hưởng bởi vỡ hồng cầu.



# **ĐỊNH LƯỢNG Zn (KẼM) MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Kẽm (Zn) là vi chất quan trọng đối với sức khỏe. Khi thiếu kẽm, đặc biệt là ở trẻ em dưới 5 tuổi sẽ gây nhiều hậu quả nghiêm trọng như rối loạn hệ thống miễn dịch, suy dinh dưỡng, tiêu chảy, viêm phổi .... Khi lưu hành trong máu, kẽm được liên kết với protein vận chuyển và một phần rất nhỏ kẽm ở dưới dạng tự do. Vì vậy sự thiếu hụt protein máu nói chung và protein vận chuyển kẽm nói riêng sẽ làm giảm lượng kẽm huyết thanh. Kẽm hỗ trợ hệ thống miễn dịch, cần thiết cho vết thương lành lại, giúp bảo vệ vị giác và khứu giác, cần thiết cho sự tổng hợp DNA. Kẽm cũng hỗ trợ cho việc tăng trưởng và phát triển bình thường của thai nhi trong bụng mẹ, thời kỳ ấu thơ và thiếu niên.

Zn trong bệnh phẩm kết hợp dưới dạng chelat với 5-Br-PAPS2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(N-propyl-N-sulfopropylamino)-phenol trong thuốc thử. Phức hợp được tạo thành đo được ở bước sóng 560 nm

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

- 1 cán bộ đại học có thẩm quyền ký duyệt kết quả;
- 1 KTV chuyên ngành hóa sinh hoặc người có trình độ phù hợp để thực hiện phân tích đã được đào tạo sử dụng máy phân tích hóa sinh tự động

### **2. Phương tiện và hóa chất**

#### **2.1. Phương tiện**

- Máy xét nghiệm hóa sinh tự động
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh đựng hóa chất, tủ lạnh bảo quản mẫu QC, mẫu bệnh phẩm
- Pipet các loại, đầu côn xanh, đầu côn vàng
- Giá đựng ống nghiệm, các ống lấy mẫu, sample cup ...

#### **2.2. Hóa chất:**

- Hóa chất định lượng kẽm phù hợp VD của công ty Randox
- Các chất chuẩn, QC, dung dịch pha loãng, dung dịch hệ thống của Randox

**3. Người bệnh:** cần giải thích cho người bệnh và người nhà hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm.

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1.Lấy bệnh phẩm:**

Mẫu bệnh phẩm có thể là huyết thanh hoặc huyết tương hoặc nước tiểu. Không sử dụng ống chống đông bằng EDTA. Lấy 3 ml máu tĩnh mạch. Ly tâm 3000 vòng/ phút trong 5 phút, tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương ngay khi có thể.

### **2.Tiến hành kỹ thuật**

- KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG: việc thực hiện nội kiểm chất lượng được diễn ra trước khi thực hiện phân tích mẫu cho người bệnh và tuân thủ theo quy trình nội kiểm chất lượng của phòng xét nghiệm. Vật liệu làm nội kiểm có 2 mức nồng độ khác nhau. Kết quả nội kiểm chất lượng được xem xét theo các quy định của quy trình nội kiểm chất lượng. Chỉ khi nội kiểm chất lượng đạt mới tiến hành phân tích mẫu bệnh phẩm.
- Thực hiện kỹ thuật trên máy phân tích tự động theo chương trình cài đặt sẵn
- Lấy và in trả kết quả sau khi đã được người có thẩm quyền duyệt kết quả

## **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

### **1.Khoảng tham chiếu:**

- Mỗi phòng xét nghiệm nên tự thiết lập giá trị tham chiếu riêng cho mình để đảm bảo tính đại diện của mỗi quần thể người bệnh.
- Người lớn trưởng thành:  
Bình thường trong huyết thanh hoặc huyết tương: 9.18 - 18.4  $\mu\text{mol/L}$  (60.0 - 120.0  $\mu\text{g/dL}$ ); trong nước tiểu: 3.83 - 13.0  $\mu\text{mol/L}$  (25.0 - 85.0  $\mu\text{g/dL}$ )
- Ở trẻ em: 11.5 - 15.3  $\mu\text{mol/L}$  (75.0 - 100.0  $\mu\text{g/dL}$ )

**2.Tăng trong:** tăng kẽm huyết thanh

**3.Giảm trong:** phụ nữ có thai, thiếu kẽm huyết thanh, hội chứng thận hư, tiêu chảy kéo dài...

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- Tuyến tính đến 103  $\mu\text{mol/L}$  (672  $\mu\text{g/dL}$ ). Cần pha loãng bệnh phẩm nếu vượt ngưỡng này.

# ĐO HOẠT ĐỘ LIPASE DỊCH CHỌC DÒ

## I. NGUYÊN LÝ

Lipase là enzyme thủy phân lipid.

Hoạt độ của enzym Lipase trong dịch chọc dò của người bệnh được xác định theo phương pháp động học enzym.

*Lipase*

1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6-methylresorufin) ester =>

1,2-O-dilauryl-rac-glycerol + glutaric acid-(6-methylresorufin) ester

Glutaric acid-(6-methylresorufin) ester => glutaric acid + methylresorufin

Cường độ màu (màu đỏ) hình thành tỷ lệ thuận với hoạt độ Lipase và có thể đo được ở bước sóng 570 nm.

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### 2. Phương tiện, hóa chất

+ Phương tiện:

- Máy xét nghiệm như Cobas C501, AU 640, AU 5800....
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh
- Dụng cụ lấy máu

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Lipase, chất chuẩn Lipase, chất kiểm tra chất lượng Lipase.

### 3. Người bệnh

Người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy dịch chọc dò để làm xét nghiệm.

### 4. Phiếu xét nghiệm

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

### 1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml dịch chọc dò vào ống nghiệm. Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 7 ngày ở 15°C đến 25°C, 1 năm ở -15°C đến -25°C.
- Sau khi lấy dịch chọc dò, đem ly tâm nếu thấy dịch đục.

## **2. Tiến hành kỹ thuật**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm Lipase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Lipase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Lipase đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm 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: không có lipase trong dịch chọc dò
- + Lipase trong dịch chọc dò tăng khi : Bệnh tụy viêm tụy cấp hoại tử. các bệnh như thủng, u đường tiêu hóa nhất là có liên quan đến tụy.

## **V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

- + Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

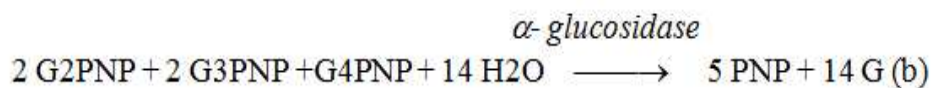
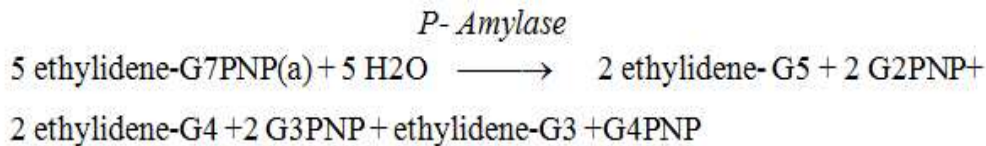
- dịch màu vàng: Bilirubin 1026  $\mu\text{mol/L}$  (< 60 mg/dL)
- dịch màu đỏ: Hemoglobin < 500 mg/dL.
- dịch đục: Triglyceride < 1000 mg/dL .

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán kết quả).

## ĐO HOẠT ĐỘ P- AMYLASE (Pancreatic amylase) MÁU

### I. NGUYÊN LÝ

Trong cơ thể có 2 loại  $\alpha$ - amylase là  $\alpha$ - amylase tụy (P. amylase) và  $\alpha$ - amylase nước bọt (Salivary Amylase). Trong khi P. amylase hầu như chỉ có ở tuyến tụy và vì thế đặc hiệu cho cơ quan này, thì loại S.Amylase có thể có ở nhiều nơi. Ngoài tuyến nước bọt, loại S.amylase còn được thấy trong nước mắt, mồ hôi, sữa mẹ, dịch ối, phổi, tinh hoàn và biểu mô của ống dẫn trứng. Vì các bệnh của tuyến tụy ít có các triệu chứng lâm sàng đặc trưng nên việc xác định enzym là rất quan trọng trong chẩn đoán bệnh ở tụy. Ưu điểm của xét nghiệm này là xác định  $\alpha$ - amylase đặc hiệu cho tụy thay vì xác định amylase toàn phần. P- Amylase được xác định hoạt độ theo nguyên lý sau:



a) PNP p-nitrophenol

b) G Glucose

Tỷ lệ sự tạo thành p-nitrophenol tỷ lệ thuận với hoạt tính xúc tác của  $\alpha$ - amylase tụy. Nó được xác định bằng cách đo sự gia tăng của độ hấp thu bằng phương pháp đo quang.

### II. CHUẨN BỊ

#### 1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp.

#### 2. Phương tiện, hóa chất:

##### Phương tiện

- Máy có thể phân tích: COBAS C, AU...
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyển mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

##### Hóa chất

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử xác định hoạt độ P-amylase. Chất chuẩn, Chất kiểm tra chất lượng P-amylase.

#### 3. Người bệnh:

Người bệnh, người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

#### **1. Lấy bệnh phẩm:**

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương (Li-Heparin) hoặc nước tiểu để thực hiện xét nghiệm này. Lấy 3mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông là Li-Heparin. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút, tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

Bệnh phẩm là huyết thanh, huyết tương ổn định 7 ngày ở 15- 25 °C, 1 tháng ở 2-8 °C

Lấy mẫu nước tiểu không dùng chất bảo quản. Độ ổn định: 2 ngày ở 15 - 25 °C, 10 ngày ở 2- 8 °C.  $\alpha$ - amylase tụy không ổn định trong nước tiểu acid nên cần tiến hành xét nghiệm ngay hoặc chỉnh pH về khoảng kiềm (pH khoảng 7) trước khi bảo quản.

#### **2. Tiến hành kỹ thuật:**

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm P-amylase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm P-amylase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm P-amylase đạt yêu cầu: không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

### **IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ**

+ Giá trị tham chiếu của P- amylase như sau

- Huyết thanh/huyết tương (chung cho cả nam và nữ): 13- 53 U/L

- Nước tiểu Nam: 7-356 U/L, Nữ: 13-319 U/L

- Tỷ số  $\alpha$ - amylase tụy/ creatinine Nam: 35- 199 U/g Nữ: 52- 259 U/g

Nên xác định tỷ số  $\alpha$ - amylase tụy/creatinine để khắc phục dao động hoạt độ  $\alpha$ - amylase tụy trong nước tiểu. Để làm điều này, xác định hoạt độ  $\alpha$ -amylase tụy và nồng độ creatinine trong nước tiểu sau đó tính tỷ số của chúng.

Xác định hoạt độ  $\alpha$ - amylase tụy thích hợp cho việc chẩn đoán và theo dõi viêm tụy cấp và các đợt cấp trong viêm tụy mạn. Về mặt độ nhạy và độ đặc hiệu lâm sàng, giá trị chẩn đoán của  $\alpha$ -amylase tụy tương đương với giá trị chẩn đoán của lipase, enzyme đặc hiệu cho tụy. Độ nhạy của  $\alpha$ -amylase tụy cao hơn so với độ nhạy của  $\alpha$ -amylase toàn phần trong chẩn đoán viêm tụy cấp.

## **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

*Với mẫu huyết thanh/huyết tương*

- Trong một số hiếm trường hợp, hoạt tính  $\alpha$ -amylase nước bọt quá cao có thể làm tăng kết quả đo của  $\alpha$ -amylase tụy .

- Không hút thuốc thử hay bệnh phẩm bằng miệng, và đảm bảo rằng thuốc thử không tiếp xúc với da do nước bọt và mồ hôi có chứa  $\alpha$ -amylase.

- Huyết thanh vàng: Không ảnh hưởng đáng kể với nồng độ bilirubin  $\leq 1026 \mu\text{mol/L}$  hoặc  $\leq 60 \text{ mg/dL}$ .

- Tán huyết: Không ảnh hưởng đáng kể với nồng độ hemoglobin  $\leq 124 \mu\text{mol/L}$  hoặc  $200 \text{ mg/dL}$ .

- Huyết thanh đục: Không ảnh hưởng đáng kể với chỉ số L tối đa đến 1500.

Không ảnh hưởng đáng kể với acid ascorbic tối đa đến  $5.68 \text{ mmol/L}$  ( $100 \text{ mg/dL}$ ). Thuốc có Icodextrin có thể làm giảm giá trị amylase.

Trong một số ít trường hợp: bệnh gammaglobulin, đặc biệt tít IgM (bệnh tăng macroglobulin Waldenström), có thể cho kết quả nhiễu.

Người bệnh bị macroamylase cho kết quả amylase tụy cao hơn.

+ *Với mẫu nước tiểu*

Các nhóm các thuốc thông thường với nồng độ trị liệu không ảnh hưởng đáng kể đến kết quả xét nghiệm P- amylase nước tiểu .

# **ĐO HOẠT ĐỘ THYMIDINE KINASE MÁU**

## **I. NGUYÊN LÝ**

Thymidin Kinase (TK) tham gia vào việc tổng hợp DNA và xúc tác cho quá trình phosphoryl hóa của thymidine thành thymidine monophosphate. Hoạt tính của TK tăng đáng kể trong pha S của chu trình tế bào. Hoạt động của nó đã được chứng minh là một chỉ tố đáng tin cậy của quá trình tăng sinh của các tế bào ung thư. TK trong tế bào người có hai dạng đồng phân, một là cytosolic (TK 1) và dạng ty thể (TK2). Trong đó chỉ có nồng độ của TK1 là ảnh hưởng đến chu trình tế bào.

Xét nghiệm xác định hoạt độ Thymidine Kinase là xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang cạnh tranh hai bước gián tiếp để định lượng TK trong máu.

## **II. CHUẨN BỊ**

### **1. Người thực hiện**

Người thực hiện kỹ thuật cần có trình độ phù hợp

### **2. Phương tiện, hóa chất:**

#### **Phương tiện**

- Máy có thể phân tích: LIAISON và một số máy miễn dịch khác
- Máy ly tâm
- Tủ lạnh để bảo quản hóa chất, chất hiệu chuẩn, QC và mẫu bệnh phẩm
- Ống nghiệm, giá đựng ống nghiệm
- Pipet chuyển mẫu, nước cất hoặc nước khử ion

#### **Hóa chất**

Các hóa chất cần thiết gồm:

- Thuốc thử xác định hoạt độ thymidine kinase. Chất chuẩn, bảo quản ở -20°C, Chất kiểm tra chất lượng thymidine kinase.

### **3. Người bệnh:**

Cần giải thích cho người, người nhà người bệnh bệnh hiểu về mục đích của việc lấy máu làm xét nghiệm

### **4. Phiếu xét nghiệm:**

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

## **III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH**

### **1. Lấy bệnh phẩm:**

Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương EDTA để thực hiện xét nghiệm này.



Nên lấy máu lúc đói nhưng đây không phải điều kiện bắt buộc. Lấy 3 mL máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hoặc có chất chống đông EDTA. Sau đó ly tâm 4000 vòng/5 phút để tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương. Bệnh phẩm ổn định trong vòng 7 ngày nếu bảo quản ở 2-8°C, nếu để lâu hơn cần bảo quản đông lạnh (-20°C hoặc thấp hơn). Tránh rã đông nhiều lần.

## 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 Thymidin Kinase. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Thymidin Kinase. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Thymidin Kinase 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).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

## IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Giá trị tham chiếu cho Thymidine Kinase như sau:

| Quần thể (n)           | Giá trị TK trung bình | Độ đặc hiệu 5 – 95% |
|------------------------|-----------------------|---------------------|
| Người khỏe mạnh (n=98) | 4.3 U/L               | 2.0 – 7.5 U/L       |

*Các giới hạn này được cân nhắc như một nguồn tài liệu tham khảo. Mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập dải giá trị của riêng mình.*

Người bệnh với bệnh máu ác tính:

| Quần thể (n)                        | Giá trị TK trung bình | Độ đặc hiệu 5 – 95% |
|-------------------------------------|-----------------------|---------------------|
| Lympho không Hodgkin                |                       |                     |
| - Tổng số (n = 172)                 | 24.8 U/L              | 0.9 – 101 U/L       |
| - Không đau (n = 33)                | 9.9 U/L               | 1.5 – 26.0 U/L      |
| - Tiến triển (n = 54)               | 38.4 U/L              | < 0.5 – 227 U/L     |
| Thế tủy (n=95)                      | 20.5 U/L              | <0.5 – 104 U/L      |
| MGUS (n=17)                         | 2.6 U/L               | <0.5 – 6.9 U/L      |
| U lympho Hodgkin (n = 23)           | 12.8 U/L              | 3.3 -45.9 U/L       |
| Bệnh nhiễm khuẩn lành tính (n = 43) | 7.3 U/L               | 2.9 – 17.9 U/L      |
| Bệnh lành tính (n = 20)             | 5.3 U/L               | 1.1 – 10.8 U/L      |

MGUS: bệnh gamma đơn dòng có ý nghĩa không xác định

*Các giới hạn này được cân nhắc như một nguồn tài liệu tham khảo. Mỗi phòng xét nghiệm nên thiết lập dải giá trị của riêng mình.*

Nhiều nghiên cứu khoa học đã báo cáo rằng nồng độ của TK tăng trong rất nhiều khối u. Tuy nhiên, trong hầu hết các nghiên cứu, TK được sử dụng để tiên lượng và theo dõi điều trị cho bệnh máu ác tính. Nghiên cứu chỉ ra rằng hoạt độ TK

trong huyết thanh tăng cho thấy rõ nguy cơ cao đối với sự tiến triển bệnh của u lympho không Hodgkin và bệnh bạch cầu mạn. Trong bệnh bạch cầu mạn, TK dường như cung cấp đầy đủ thông tin tiên lượng độc lập với hệ thống phân loại Binet. TK bổ sung độc lập thông tin tiên lượng với các tiêu chí xác định tiềm tàng của bệnh bạch cầu mạn. Hơn nữa, hoạt độ TK trong huyết thanh tương quan với các giai đoạn lâm sàng và đưa ra được thông tin tiên lượng. Giá trị TK cao đã được báo cáo ở các người bệnh bệnh bạch cầu cấp. Các nghiên cứu chỉ ra rằng hoạt độ TK trong huyết thanh có thể cho thấy sự tiến triển của các tế bào máu và tiên lượng đáp ứng điều trị với thời gian sống của người bệnh.

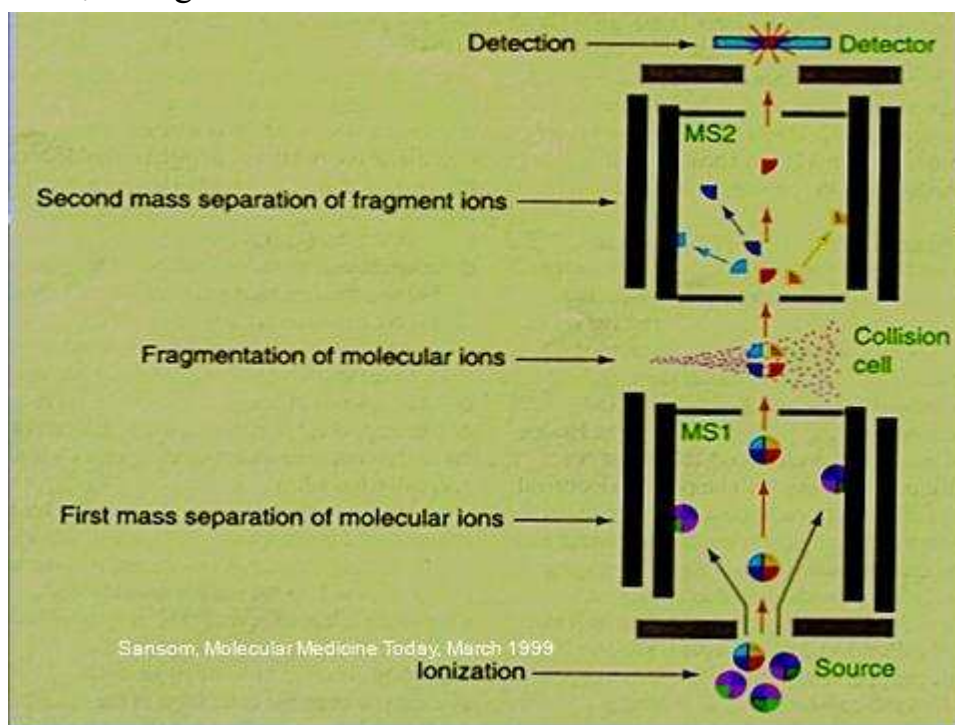
#### **V.NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ**

Các nghiên cứu kiểm soát các chất gây nhiễu cho thấy xét nghiệm được thực hiện không bị ảnh hưởng bởi cholesterol (tối đa 500 mg/dL tức 12.95 mmol/L), mẫu tán huyết (tối đa 500 mg/dL), bilirubin (tối đa 20 mg/dL tức 342  $\mu$ mol/L), và triglyceride (tối đa 3000 mg/dL tức 33.9 mmol/L)

# SÀNG LỌC CÁC BỆNH RỐI LOẠN CHUYỂN HÓA BẨM SINH BẰNG MSMS

## I. NGUYÊN LÝ

MSMS là thiết bị sử dụng để phân tách và định lượng các ion dựa trên tỷ số khối lượng/ điện tích của chúng (mass/charge ratio). MSMS tạo ra các phân tử tích điện từ mẫu cần phân tích, sau đó sử dụng điện và từ trường để phân tách và đo lường khối lượng của các phân tử tích điện. Bộ phận phát hiện sẽ tạo ra đồ thị phổ khối của các đỉnh có thể định lượng được bằng các chuẩn nội để xác định lượng mỗi chất có mặt trong mẫu.



MSMS gồm 2 MS nối với nhau bởi một bộ phận gọi là collision cell. Trước khi đi vào MS thứ nhất, mẫu được ion hoá bằng fast atom bombardment hoặc electrospray. (FAB-MS/MS hoặc ES-MS/MS). Quá trình này tạo điện tích nhưng không phân cắt các hợp chất hữu cơ trong mẫu.

MS thứ nhất phân tách các ion gốc (parent ions) theo trình tự số khối (mass/charge ratio) và chuyển sang bộ collision chamber.

Bộ phận collision chamber phân cắt các ion gốc chuyển các mảnh ion sang MS thứ hai. Mẫu hình của các mảnh ion của mỗi ion gốc được phân tích và so sánh với phổ đã biết của các chất chuẩn nội. Toàn bộ quá trình ion hoá và phân tích kết quả mất khoảng 2 phút.

MS/MS là một công cụ hiệu quả giúp sàng lọc các rối loạn chuyển hoá acid béo, acid amin và acid hữu cơ niệu.

Định lượng acid amin, carnitine tự do và acylcarnitine bằng NeoMass AAAC kit đòi hỏi phải tách chiết mẫu máu thấm khô bằng dung dịch chứa nội chuẩn đồng vị ổn định (Stable isotope labeled internal standards) và phân tích trên MSMS. Tín hiệu của mỗi chất phân tích trong mẫu so với nội chuẩn tỷ lệ với nồng độ của chất phân tích trong mẫu. Dữ liệu được thu nhận bằng phương pháp MRM (Multiple Reaction Monitoring). Trong phương pháp này, sản phẩm của mỗi chất phân tích sau khi qua bộ phận va chạm (collision cell) được đo lường. Dữ liệu được thu và xử lý bởi phần mềm cung cấp cho hệ thống.

Hệ thống MS ba tứ cực (triple quadrupole) sử dụng cho phép đo lường này được kiểm soát bằng máy tính, phát hiện các phân tử ion hoá trong mẫu theo số khối ( $m/z$ ). Mẫu tách chiết được đưa vào bộ ion hoá bằng tia điện (electrospray ionization- ESI) của MS nhờ hệ thống sắc ký lỏng (LC), bao gồm bơm mẫu tự động, bơm, khí của dung môi. ESI tạo sự ion hoá nhẹ, nơi mà các ion được tạo thành khi dung môi bay hơi. ESI tạo các phân tử proton hoá hoặc khử proton, được lựa chọn để đưa vào máy phân tích khối để phát hiện.

Trong hệ thống MSMS, các ion được lựa chọn của các chất phân tích được phân tách trong tứ cực thứ nhất (Q1), chuyển sang tứ cực thứ 2 (Collision cell) nơi mà khí trơ có áp lực cao gây phân mảnh đặc hiệu. Một ion sản phẩm của mỗi chất phân tích được lựa chọn đưa vào Q3 và phát hiện bởi đầu dò.

## II. CHUẨN BỊ

### 1. Người thực hiện:

Người thực hiện kỹ thuật có trình độ phù hợp

### 2. Phương tiện, hóa chất

- Phương tiện:

- Hệ thống LCMSMS 8040 của Shimadzu
- Máy đục lỗ giọt máu thấm khô DBS 100 của ...
- Máy lắc
- Tủ hôt, máy ly tâm và các trang thiết bị PXN

- Hóa chất:

| Hóa chất                             | Chuẩn bị            | Độ bền sau khi mở/pha loãng (ở +2° C đến +8° C) |
|--------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------|
| Mẫu kiểm tra chất lượng (QC samples) | Sẵn sàng để sử dụng | 1 tháng                                         |
| Chất nội chuẩn Aminoacids (AA)       | Hòa tan/pha loãng   | 1 tháng                                         |
| Chất nội chuẩn Acylcarnitines (AC)   | Hòa tan/pha loãng   | 1 tháng                                         |

|                                               |                     |         |
|-----------------------------------------------|---------------------|---------|
| Chất nội chuẩn<br>Succinylacetone (SUAC)      | Hòa tan/pha loãng   | 1 tháng |
| Chất nội chuẩn<br>Argininosuccinic acid (ASA) | Hòa tan/pha loãng   | 1 tháng |
| Dung dịch chiết (Extraction Solution)         | Sẵn sàng để sử dụng | 1 tháng |
| Dung dịch rửa giải (Elution Solution)         | Sẵn sàng để sử dụng | 1 tháng |

**3. Người bệnh:** người bệnh và người nhà người bệnh cần được giải thích về mục đích của việc lấy máu để làm xét nghiệm.

#### 4. Phiếu xét nghiệm:

- Phiếu xét nghiệm theo đúng quy định của Bộ Y tế và bệnh viện
- Trên phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin của người bệnh: họ và tên, tuổi, giới tính, số giường, khoa phòng, chẩn đoán, xét nghiệm cần làm.
- Trên phiếu xét nghiệm cần có: chữ ký và họ tên bác sĩ chỉ định xét nghiệm, họ tên người lấy mẫu, thời gian chỉ định xét nghiệm và thời gian lấy mẫu bệnh phẩm.

### III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

#### 1. Lấy bệnh phẩm

Mẫu máu thấm khô (Dry blood spot).

#### 2. Tiến hành kỹ thuật

##### 2.1. Chuẩn bị các dung dịch chuẩn nội gốc (ISTD stock solutions) (chỉ làm lần đầu tiên sử dụng bộ kit):

1. Để lọ chất nội chuẩn và dung dịch chiết về nhiệt độ phòng (18 đến 25°C)
2. Thêm vào lọ chất nội chuẩn acid amin (AA) 1 mL dung dịch chiết và lắc kỹ đến khi tan hết trong 30 phút bằng máy lắc. Dung dịch này bền trong 30 ngày khi đóng kín và bảo quản trong tủ lạnh (+2 đến +8°C).
3. Thêm vào lọ chất nội chuẩn acylcarnitines (AC) 1 mL dung dịch chiết và lắc kỹ đến khi tan hết trong 30 phút bằng máy lắc. Dung dịch này bền trong 30 ngày khi đóng kín và bảo quản trong tủ lạnh (+2 đến +8°C).

Ngay sau khi sử dụng, bảo quản ở -20°C.

##### 2.2. Chuẩn bị dung dịch làm việc hàng ngày (daily working solution)

- Các dung dịch làm việc hàng ngày được chuẩn bị bằng cách pha loãng các dung dịch chất nội chuẩn đã hòa tan ở trên theo tỉ lệ 1: 100 (v/v) bằng dung dịch chiết.

Ví dụ: dùng pipet lấy 100 µl dung dịch axit amin và 100 µl dung dịch acylcarnitine vào 9,8 mL dung dịch chiết, lắc đều. Lượng này đủ dung cho đĩa 96 giếng.

- Dung dịch làm việc hàng ngày này bền trong 2 tuần khi được bảo quản trong tủ lạnh ở 2 đến 8°C trong lọ thủy tinh kín.

- Hàng ngày dựa trên lượng mẫu, tính toán để pha lượng thuốc thử vừa đủ. Nên pha hàng ngày.

### 2.3. Chuẩn bị mẫu:

Các lọ dung dịch hóa chất, nội chuẩn được để ở nhiệt độ phòng ( 20°C đến 25°C) ít nhất 30 phút trước khi bắt đầu làm xét nghiệm.

| Các bước thực hiện                                                                                                                             |                                                                                       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Sử dụng máy đục lỗ DBS 100, cắt hình tròn đường kính 3 mm từ mẫu máu thấm khô của người bệnh vào các giếng tương ứng trên khay có đáy chữ U |    |
| 2. Cắt hình tròn đường kính 3 mm của ba mẫu QC ba mức vào các giếng tương ứng trên khay có đáy chữ U, lặp lại mỗi mức QC hai giếng             |   |
| 3. Thêm 100 uL thuốc thử hàng ngày (chứa nội chuẩn) vào mỗi giếng có mẫu máu thấm khô.                                                         |  |
| 4. Đậy khay bằng tấm dính và ủ trên máy lắc 20 phút với tốc độ lắc 650 vòng/ phút. Chú ý đảm bảo sau khi xong chuyển ngay sang bước tiếp theo. |  |

|                                                                                                                                 |                                                                                     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 5. Chuyển 70 uL dịch chiết từ mỗi giếng chữ U sang giếng tương ứng của khay đáy chữ V. Đậy khay bằng tấm nhôm để tránh bay hơi. |                                                                                     |
| 6. Đưa khay đã được đậy tấm nhôm vào bộ phận bơm mẫu tự động máy LCMSMS 8040                                                    |  |

#### 2.4. Vận hành MSMS

Khởi động phần mềm ứng dụng trên hệ thống, tạo worklist sử dụng nồng độ nội chuẩn thích hợp.

#### IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

Xét nghiệm giúp phát hiện các bất thường bẩm sinh. Danh sách các bệnh Sàng lọc bằng kit NeoMass

| T<br>T | Bệnh RLCH                       | Chỉ<br>điểm 1            | Chỉ điểm<br>2 | Tỷ lệ                                       | Các bệnh cùng<br>chỉ điểm |
|--------|---------------------------------|--------------------------|---------------|---------------------------------------------|---------------------------|
| 1      | Argininosuccinic<br>acidemia    | Asa↑                     | Cit ↑         |                                             | CIT typ I, typ II         |
| 2      | Citrullinemia typeI             | Cit↑                     |               | Cit/Arg                                     | ASA                       |
| 3      | Homocystine niệu<br>(thiếu CBS) | Met↑                     |               | Met/Phe                                     | —                         |
| 4      | Bệnh siro niệu                  | Val ↑,<br>Leu↑           |               | Val/Phe,<br>(Ile+Leu)/Phe,<br>(Ile+Leu)/Ala | —                         |
| 5      | Phenylketon niệu<br>kính điển   | Phe↑                     | Tyr ↓/ bt     | Phe/Tyr                                     | —                         |
| 6      | Tyrosinemia type I              | Succinyl<br>acetone<br>↑ | Tyr bt/ ↑     | Tyr/Cit                                     | —                         |
| 7      | Argininemia                     | Arg↑                     |               | —                                           | —                         |

|    |                                                     |                                              |  |                         |                 |
|----|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------|--|-------------------------|-----------------|
| 8  | Tăng phenylalanine máu lạnh tính                    | Phe↑                                         |  | Phe/Tyr                 | PKU             |
| 9  | Citrullinemia type II                               | Cit↑                                         |  | Cit/Arg                 | ASA, CIT typ I  |
| 10 | Giảm sinh tổng hợp cofactor bioplerin               | Phe↑                                         |  | Phe/Tyr                 | PKU             |
| 11 | Rối loạn tái sinh cofactor bioplerin.               | Phe↑                                         |  | Phe/Tyr                 | PKU             |
| 12 | Tăng methionine máu                                 | Met↑                                         |  | Met/Phe                 | HCY             |
| 13 | Tyrosinemia type II                                 | Tyr↑                                         |  | Tyr/Cit                 | TYR I, III      |
| 14 | Tyrosinemia type III                                | Tyr↑                                         |  | Tyr/Cit                 | TYR I, II       |
| 15 | Tăng glycine máu không nhiễm ceton                  | Gly↑                                         |  | Gly/Ala                 | –               |
| 16 | Thiếu hụt Pyruvate carboxylase                      | Cit↑                                         |  | Cit/Arg                 | ASA             |
| 17 | Khiếm khuyết hấp thu carnitine                      | C0↓,<br>C16-<br>C18↓                         |  | (C0+C2+C3+C16+C18:1/CIT | GA I, 3MCC(mat) |
| 18 | Thiếu enzyme Long-chain 3-OH acyl-CoA dehydrogenase | C16:1-OH,<br>C16-OH,<br>C18:1-OH,<br>C18-OH, |  | C16-OH/C16              | TFP             |
| 19 | Thiếu enzyme Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase    | C6, C8,<br>C10:1,<br>C10                     |  | C8/C2, C8/C10           | GA2, MCKAT      |
| 20 | Thiếu Trifunctional protein                         | C16:1-OH,<br>C16-OH,<br>C18:1-OH,<br>C18-OH, |  | C16-OH/C16              | LCHAD           |



|    |                                                             |                                          |  |                                              |                |
|----|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------|--|----------------------------------------------|----------------|
| 21 | Thiếu enzyme Very long-chain acyl-CoA dehydrogenase.        | C14:2, C14:1, C14                        |  | C14:1/C16                                    |                |
| 22 | Thiếu Dienoyl reductase                                     | C10:2                                    |  | C10:2/C10                                    |                |
| 23 | Thiếu Carnitine palmitoyl-transferase Ia (L)                | C0 (high), C16 (low), C18(low )          |  | C0/(C16+C18)                                 | –              |
| 24 | Thiếu Carnitine palmitoyl-transferase II                    | C16, C18:2, C18:1, C18                   |  | C0/(C16+C18)                                 | CAC            |
| 25 | Glutaric acidemia type II                                   | C4–C18 saturated and unsaturated species |  | All ratios applicable to the primary markers | SCAD, IBG, EE  |
| 26 | Thiếu enzyme Medium/short-chain 3-OH acyl-CoA dehydrogenase | C4OH                                     |  | –                                            | –              |
| 27 | Thiếu enzyme Medium-chain ketoacyl-CoA dehydrogenase        | C8                                       |  | C8/C2, C8/C10                                | –              |
| 28 | Thiếu enzyme Short-chain acyl-CoA dehydrogenase             | C4                                       |  | C4/C2, C4/C3, C4/C8                          | GA II, IBG, EE |
| 29 | Thiếu Acyl-carnitine translocase                            | C16, C18:2, C18:1, C18                   |  | C0/(C16+C18 )                                | CPT II         |

|    |                                         |            |  |                              |                               |
|----|-----------------------------------------|------------|--|------------------------------|-------------------------------|
| 30 | Thiếu 3-Methyl crotonyl-CoA carboxylase | C5OH       |  | C5OH/C8, C5OH/C0             | MCD, BKT, 3MGA, HMG, 2M3HBA,  |
| 31 | Chứng 3-Hydroxy 3-methyl Glutaric niệu  | C5OH, C6DC |  | C5OH/C8                      | MCD, BKT, 3MGA, MCD, 2M3HBA,  |
| 32 | Thiếu Beta-ketothiolase                 | C5:1, C5OH |  | C5OH/C8                      | 3MCC, HMG, 3MGA, MCD, 2M3HBA, |
| 33 | Glutaric acidemia type I                | C5DC       |  | C5DC/C5OH, C5DC/C8, C5DC/C16 | GA 2                          |
| 34 | Isovaleric acidemia                     | C5         |  | C5/C0, C5/C2, C5/C3          | 2MBG, GA2, EE                 |
| 35 | Methylmalonic acidemia (A,B)            | C3         |  | C3/C2, C3/C16                | MUT PA, Cbl C,D               |
| 36 | Methylmalonic acidemia (Mut)            | C3         |  | C3/C2, C3/C16                | Cbl A,B PA                    |
| 37 | Thiếu Multiple carboxylase              | C5OH       |  | C5OH/C8                      | 3MCC                          |
| 38 | Propionic acidemia                      | C3         |  | C3/C2, C3/C16                | MUT                           |
| 39 | Chứng 2-Methyl 3 hydroxy butyric niệu   | C5OH       |  | C5OH/C8                      | 3MCC                          |
| 40 | Thiếu 2-Methylbutyryl CoA dehydrogenase | C5         |  | C5/C0, C5/C2, C5/C3          | IVA                           |
| 41 | Chứng 3-Methyl glutaconic niệu          | C5OH       |  | C5OH/C8                      | 3MCC                          |
| 42 | Thiếu Isobutyryl-CoA dehydrogenase      | C4         |  | C4/C2, C4/C3, C4/C8          | —                             |

|    |                              |        |  |                                              |     |
|----|------------------------------|--------|--|----------------------------------------------|-----|
| 43 | Chứng Malonic niệu           | C3DC   |  | C3DC/C10                                     | –   |
| 44 | Methylmalonic acidemia (C,D) | C3     |  | C3/C2,,<br>C3/C16,<br>C3/Met                 | MUT |
| 45 | Bệnh não do Ethylmalonic     | C4, C5 |  | All ratios applicable to the primary markers | IVA |

## V. NHỮNG YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG VÀ XỬ TRÍ

**QUỐC HỘI**

**CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM**

Luật số: 15/2023/QH15

**Độc lập - Tự do - Hạnh phúc**

VĂN PHÒNG CHÍNH PHỦ

**CÔNG VĂN ĐẾN**

Giờ: 5 Ngày: 12

Kính chuyển: TTĐ

**LUẬT**

**KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH**

CÔNG THÔNG TIN ĐIỆN TỬ CHÍNH PHỦ

**ĐẾN** Giờ: 5

Ngày: 07/02/2023

*Căn cứ Hiến pháp nước Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam;*

*Quốc hội ban hành Luật Khám bệnh, chữa bệnh.*

## **Chương I**

### **NHỮNG QUY ĐỊNH CHUNG**

#### **Điều 1. Phạm vi điều chỉnh**

Luật này quy định về quyền, nghĩa vụ của người bệnh; người hành nghề khám bệnh, chữa bệnh; cơ sở khám bệnh, chữa bệnh; chuyên môn kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh; khám bệnh, chữa bệnh bằng y học cổ truyền và kết hợp y học cổ truyền với y học hiện đại; khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo, không vì mục đích lợi nhuận; chuyển giao kỹ thuật chuyên môn về khám bệnh, chữa bệnh; áp dụng kỹ thuật mới, phương pháp mới và thử nghiệm lâm sàng; sai sót chuyên môn kỹ thuật; điều kiện bảo đảm hoạt động khám bệnh, chữa bệnh; huy động, điều động nguồn lực phục vụ công tác khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp.

#### **Điều 2. Giải thích từ ngữ**

Trong Luật này, các từ ngữ dưới đây được hiểu như sau:

1. *Khám bệnh* là việc người hành nghề khám bệnh, chữa bệnh sử dụng kiến thức, phương pháp, kỹ thuật chuyên môn để đánh giá tình trạng sức khỏe, nguy cơ đối với sức khỏe và nhu cầu chăm sóc sức khỏe của người bệnh.

2. *Chữa bệnh* là việc người hành nghề khám bệnh, chữa bệnh sử dụng kiến thức, phương pháp, kỹ thuật chuyên môn để giải quyết tình trạng bệnh, ngăn ngừa sự xuất hiện, tiến triển của bệnh hoặc đáp ứng nhu cầu chăm sóc sức khỏe của người bệnh trên cơ sở kết quả khám bệnh.

3. *Người bệnh* là người sử dụng dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh.

4. *Người hành nghề khám bệnh, chữa bệnh* là người đã được cơ quan có thẩm quyền của Việt Nam cấp giấy phép hành nghề khám bệnh, chữa bệnh (sau đây gọi là người hành nghề).

5. *Giấy phép hành nghề khám bệnh, chữa bệnh* là văn bản do cơ quan có thẩm quyền của Việt Nam cấp cho người có đủ điều kiện hành nghề khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của Luật này (sau đây gọi là giấy phép hành nghề).

6. *Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh* là cơ sở đã được cơ quan có thẩm quyền của Việt Nam cấp giấy phép hoạt động khám bệnh, chữa bệnh để cung cấp dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh.

7. *Giấy phép hoạt động khám bệnh, chữa bệnh* là văn bản do cơ quan có thẩm quyền của Việt Nam cấp cho cơ sở có đủ điều kiện hoạt động khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của Luật này (sau đây gọi là giấy phép hoạt động).

8. *Bài thuốc gia truyền hoặc phương pháp chữa bệnh gia truyền* là bài thuốc hoặc phương pháp chữa bệnh theo kinh nghiệm do dòng tộc hoặc gia đình truyền lại và điều trị có hiệu quả đối với một hoặc một số bệnh được cơ quan chuyên môn về y tế thuộc Ủy ban nhân dân cấp tỉnh công nhận.

9. *Người có bài thuốc gia truyền hoặc có phương pháp chữa bệnh gia truyền* là người giữ quyền sở hữu bài thuốc hoặc phương pháp chữa bệnh quy định tại khoản 8 Điều này.

10. *Người bệnh không có thân nhân* là người thuộc một trong các trường hợp sau đây:

a) Người bệnh đang trong tình trạng cấp cứu không có giấy tờ tùy thân, không có thân nhân đi cùng, không có thông tin để liên lạc với thân nhân;

b) Người bệnh tại thời điểm vào cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không thể hoặc có khó khăn trong nhận thức, làm chủ hành vi và không có giấy tờ tùy thân, không có thân nhân đi cùng, không có thông tin để liên lạc với thân nhân;

c) Người bệnh đã xác định được danh tính nhưng tại thời điểm vào cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không thể hoặc có khó khăn trong nhận thức, làm chủ hành vi, không có thân nhân đi cùng, không có thông tin để liên lạc với thân nhân;

d) Trẻ em dưới 06 tháng tuổi bị bỏ rơi tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

11. *Thân nhân của người bệnh* là người thuộc một trong các trường hợp sau đây:

a) Vợ hoặc chồng; cha mẹ đẻ, cha mẹ nuôi, cha mẹ vợ, cha mẹ chồng; con đẻ, con nuôi, con dâu, con rể của người bệnh hoặc thành viên khác trong gia đình theo quy định của Luật Hôn nhân và gia đình;

b) Người đại diện của người bệnh;

c) Người trực tiếp chăm sóc cho người bệnh trong quá trình khám bệnh, chữa bệnh tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh nhưng không phải là người hành nghề.

12. *Người đại diện của người bệnh* là người thay thế cho người bệnh thực hiện quyền và nghĩa vụ của người bệnh theo quy định của Luật này trong phạm vi đại diện.

13. *Người chịu trách nhiệm chuyên môn của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh* là người đại diện theo pháp luật của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh về toàn bộ hoạt động chuyên môn của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

14. *Cập nhật kiến thức y khoa liên tục* là việc bổ sung kiến thức, kỹ năng về y khoa phù hợp với phạm vi hành nghề theo quy định của Bộ trưởng Bộ Y tế.

15. *Tình trạng cấp cứu* là tình trạng sức khỏe hoặc hành vi xuất hiện đột ngột của một người mà nếu không được theo dõi, can thiệp kịp thời thì có thể dẫn đến suy giảm chức năng cơ thể, tổn thương nghiêm trọng và lâu dài đối với cơ quan, bộ phận cơ thể hoặc tử vong ở người đó hoặc đe dọa nghiêm trọng về sức khỏe, tính mạng đối với người khác.

16. *Hội chẩn* là việc thảo luận giữa một nhóm người hành nghề về tình trạng bệnh của người bệnh để chẩn đoán và đưa ra phương pháp chữa bệnh phù hợp, kịp thời.

17. *Hồ sơ bệnh án* là tập hợp dữ liệu, bao gồm thông tin cá nhân, kết quả khám bệnh, kết quả cận lâm sàng, kết quả thăm dò chức năng, quá trình chẩn đoán, điều trị, chăm sóc và những thông tin khác có liên quan trong quá trình chữa bệnh của người bệnh tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

18. *Phục hồi chức năng* là tập hợp các can thiệp, bao gồm các phương pháp y học, kỹ thuật phục hồi chức năng, công nghệ trợ giúp, biện pháp giáo dục, hướng nghiệp, xã hội và cải thiện môi trường, để người bệnh phát triển, đạt được, duy trì tối đa hoạt động chức năng, phòng ngừa và giảm tình trạng khuyết tật phù hợp với môi trường sống của họ.

19. *Khám bệnh, chữa bệnh từ xa* là hình thức khám bệnh, chữa bệnh không trực tiếp tiếp xúc giữa người hành nghề và người bệnh mà việc khám bệnh, chữa bệnh được thực hiện thông qua thiết bị, công nghệ thông tin.

20. *Khám sức khỏe* là việc khám bệnh để xác định tình trạng sức khỏe, phân loại sức khỏe hoặc phát hiện, quản lý bệnh.

21. *Giám định y khoa* là việc khám bệnh để xác định tình trạng sức khỏe, mức độ tổn thương cơ thể do thương tích, bệnh, tật, dị dạng, dị tật theo trung cầu hoặc yêu cầu của cơ quan, tổ chức, cá nhân.

22. *Sự cố y khoa* là tình huống không mong muốn hoặc bất thường xảy ra trong quá trình khám bệnh, chữa bệnh do yếu tố khách quan, chủ quan.

23. *Tai biến y khoa* là sự cố y khoa gây tổn hại đến sức khỏe, tính mạng của người bệnh do một trong các nguyên nhân sau đây:

a) Rủi ro xảy ra ngoài ý muốn mặc dù người hành nghề đã tuân thủ các quy định về chuyên môn kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh (sau đây gọi là chuyên môn kỹ thuật);

b) Sai sót chuyên môn kỹ thuật.

### **Điều 3. Nguyên tắc trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Tôn trọng, bảo vệ, đối xử bình đẳng và không kỳ thị, phân biệt đối xử đối với người bệnh.

2. Ưu tiên khám bệnh, chữa bệnh đối với trường hợp người bệnh trong tình trạng cấp cứu, trẻ em dưới 06 tuổi, phụ nữ có thai, người khuyết tật đặc biệt nặng, người khuyết tật nặng, người từ đủ 75 tuổi trở lên, người có công với cách mạng phù hợp với đặc thù của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

3. Tôn trọng, hợp tác, bảo vệ người hành nghề, người khác đang thực hiện nhiệm vụ tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

4. Thực hiện kịp thời và tuân thủ quy định về chuyên môn kỹ thuật.

5. Tuân thủ quy tắc đạo đức nghề nghiệp trong hành nghề khám bệnh, chữa bệnh do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành.

6. Bình đẳng, công bằng giữa các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

### **Điều 4. Chính sách của Nhà nước về khám bệnh, chữa bệnh**

1. Nhà nước giữ vai trò chủ đạo trong phát triển hoạt động khám bệnh, chữa bệnh; huy động các nguồn lực xã hội cho hoạt động khám bệnh, chữa bệnh.

2. Ưu tiên bố trí ngân sách nhà nước cho các hoạt động sau đây:

a) Phát triển cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc y tế cơ sở, hệ thống cấp cứu ngoại viện; tập trung đầu tư cho cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tại khu vực biên giới, hải đảo, vùng đồng bào dân tộc thiểu số và miền núi, vùng có điều kiện kinh tế - xã hội khó khăn và vùng có điều kiện kinh tế - xã hội đặc biệt khó khăn;

b) Khám bệnh, chữa bệnh đối với người có công với cách mạng; trẻ em, người cao tuổi, người khuyết tật, người thuộc hộ nghèo, người thuộc hộ cận nghèo; người đang sinh sống ở khu vực biên giới, hải đảo, vùng có điều kiện kinh tế - xã hội khó khăn và vùng có điều kiện kinh tế - xã hội đặc biệt khó khăn; người mắc bệnh tâm thần, bệnh phong; người mắc bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A; người mắc bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm B theo danh mục do Bộ trưởng Bộ Y tế quy định;

c) Tăng cường phát triển nguồn nhân lực y tế, đặc biệt là nguồn nhân lực thuộc các lĩnh vực truyền nhiễm, tâm thần, giải phẫu bệnh, pháp y, pháp y tâm thần, hồi sức cấp cứu và chuyên ngành, lĩnh vực khác cần ưu tiên để đáp ứng nhu cầu, điều kiện phát triển kinh tế - xã hội trong từng thời kỳ theo quy định của Chính phủ;

d) Nghiên cứu, ứng dụng khoa học, công nghệ, chuyển đổi số trong khám bệnh, chữa bệnh.

3. Khuyến khích thực hiện hợp tác công tư; thực hiện ưu đãi đầu tư trong lĩnh vực khám bệnh, chữa bệnh. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được ưu đãi về tín dụng để đầu tư nâng cao chất lượng khám bệnh, chữa bệnh; được miễn thuế thu nhập doanh nghiệp đối với phần thu nhập không chia mà để lại để đầu tư phát triển cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

4. Đầu tư cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tại vùng có điều kiện kinh tế - xã hội khó khăn, vùng có điều kiện kinh tế - xã hội đặc biệt khó khăn và cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hoạt động không vì mục đích lợi nhuận được xác định thuộc ngành, nghề đặc biệt ưu đãi đầu tư trong Danh mục ngành, nghề ưu đãi đầu tư.

5. Thực hiện chế độ luân phiên có thời hạn đối với người hành nghề giữa các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh của Nhà nước.

6. Có chính sách đãi ngộ đặc biệt đối với người hành nghề.

7. Có chính sách phát triển nguồn nhân lực quản lý, quản trị bệnh viện.

8. Phát huy vai trò của các tổ chức xã hội - nghề nghiệp về khám bệnh, chữa bệnh trong hoạt động khám bệnh, chữa bệnh.

9. Kế thừa và phát huy y học cổ truyền; kết hợp y học cổ truyền với y học hiện đại.

10. Kết hợp quân y và dân y trong khám bệnh, chữa bệnh.

## **Điều 5. Quản lý nhà nước về khám bệnh, chữa bệnh**

1. Nội dung quản lý nhà nước trong khám bệnh, chữa bệnh bao gồm:

a) Xây dựng, ban hành và tổ chức thực hiện các văn bản quy phạm pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh; ban hành hệ thống tiêu chuẩn, quy chuẩn kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh;

b) Xây dựng, ban hành và tổ chức thực hiện chiến lược, chính sách, chương trình, đề án, kế hoạch về khám bệnh, chữa bệnh;

c) Xây dựng, ban hành và tổ chức thực hiện quy hoạch hệ thống cơ sở khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của pháp luật về quy hoạch;



d) Quy định về chuyên môn kỹ thuật, tiêu chí, tiêu chuẩn, quy chuẩn trong khám bệnh, chữa bệnh;

đ) Tổ chức, xây dựng, quản lý hệ thống cơ sở khám bệnh, chữa bệnh; đánh giá chất lượng cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

e) Cấp, đình chỉ, thu hồi giấy phép hành nghề đối với người hành nghề, giấy phép hoạt động đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

g) Đào tạo, bồi dưỡng phát triển nguồn nhân lực cho hoạt động khám bệnh, chữa bệnh; giáo dục, tuyên truyền, phổ biến kiến thức, pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh; hướng dẫn việc thực hiện chế độ luân phiên có thời hạn đối với người hành nghề;

h) Tổ chức nghiên cứu, phát triển khoa học và công nghệ, ứng dụng và chuyển giao công nghệ trong khám bệnh, chữa bệnh;

i) Xây dựng, quản lý và vận hành Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh;

k) Quản lý nhà nước về giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của Luật này và pháp luật về giá;

l) Hợp tác quốc tế trong lĩnh vực khám bệnh, chữa bệnh;

m) Thanh tra, kiểm tra, giải quyết khiếu nại, tố cáo và xử lý vi phạm pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh.

2. Trách nhiệm quản lý nhà nước về khám bệnh, chữa bệnh được quy định như sau:

a) Chính phủ thống nhất quản lý nhà nước về khám bệnh, chữa bệnh;

b) Bộ Y tế chịu trách nhiệm trước Chính phủ thực hiện quản lý nhà nước về khám bệnh, chữa bệnh;

c) Bộ Quốc phòng, Bộ Công an, trong phạm vi nhiệm vụ, quyền hạn của mình, thực hiện quản lý nhà nước về khám bệnh, chữa bệnh và có trách nhiệm tổ chức hệ thống và hoạt động khám bệnh, chữa bệnh thuộc thẩm quyền quản lý theo quy định của Luật này;

d) Các Bộ, cơ quan ngang Bộ, trong phạm vi nhiệm vụ, quyền hạn của mình, có trách nhiệm phối hợp với Bộ Y tế thực hiện quản lý nhà nước về khám bệnh, chữa bệnh;

đ) Ủy ban nhân dân các cấp thực hiện quản lý nhà nước về khám bệnh, chữa bệnh trên địa bàn thuộc thẩm quyền quản lý.

## **Điều 6. Tổ chức xã hội - nghề nghiệp về khám bệnh, chữa bệnh**

Tổ chức xã hội - nghề nghiệp về khám bệnh, chữa bệnh được thành lập và hoạt động theo quy định của pháp luật về hội có trách nhiệm sau đây:

1. Bảo vệ quyền và lợi ích hợp pháp của hội viên theo quy định của pháp luật;
2. Tham gia vào quá trình xây dựng chính sách, pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh;
3. Tham gia các hội đồng chuyên môn, biên soạn giáo trình, tài liệu giảng dạy, tài liệu chuyên môn kỹ thuật, tham gia kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề và giám sát việc hành nghề, cập nhật kiến thức y khoa liên tục khi có đề nghị của cơ quan, tổ chức có thẩm quyền;
4. Phổ biến, giáo dục, bồi dưỡng kiến thức chuyên môn và chính sách, pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh cho các hội viên theo quy định của pháp luật;
5. Thực hiện chương trình, dự án, đề tài nghiên cứu, tư vấn, tham gia giám sát, phản biện xã hội về khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của pháp luật;
6. Tham gia xây dựng và tổ chức triển khai thực hiện quy tắc đạo đức nghề nghiệp; vận động hội viên, tổ chức, cá nhân tham gia hoạt động khám bệnh, chữa bệnh tuân thủ quy định của pháp luật;
7. Huy động các nguồn lực xã hội để triển khai hoạt động khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của pháp luật;
8. Kiến nghị với cơ quan nhà nước có thẩm quyền xử lý vi phạm pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh.

## **Điều 7. Các hành vi bị nghiêm cấm trong hoạt động khám bệnh, chữa bệnh**

1. Xâm phạm quyền của người bệnh.
2. Từ chối hoặc cố ý chậm cấp cứu người bệnh, trừ trường hợp quy định tại Điều 40 của Luật này.
3. Khám bệnh, chữa bệnh mà không đáp ứng điều kiện quy định tại Điều 19 của Luật này.
4. Khám bệnh, chữa bệnh không đúng phạm vi hành nghề hoặc phạm vi hoạt động được cơ quan có thẩm quyền cho phép, trừ trường hợp cấp cứu hoặc thực hiện khám bệnh, chữa bệnh theo huy động, điều động của cơ quan có thẩm quyền khi xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp.
5. Hành nghề khám bệnh, chữa bệnh ngoài thời gian, địa điểm đã đăng ký hành nghề khám bệnh, chữa bệnh (sau đây gọi là đăng ký hành nghề), trừ trường hợp quy định tại khoản 3 Điều 36 của Luật này.

6. Không tuân thủ quy định về chuyên môn kỹ thuật; áp dụng phương pháp, kỹ thuật chuyên môn, sử dụng thiết bị y tế chưa được cơ quan có thẩm quyền cho phép.

7. Kê đơn, chỉ định sử dụng thuốc chưa được cấp phép lưu hành theo quy định của pháp luật về được trong khám bệnh, chữa bệnh.

8. Có hành vi nhũng nhiễu trong khám bệnh, chữa bệnh.

9. Kê đơn thuốc, chỉ định thực hiện các dịch vụ kỹ thuật, thiết bị y tế, gợi ý chuyển người bệnh tới cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khác hoặc có hành vi khác nhằm trục lợi.

10. Tẩy xóa, sửa chữa hồ sơ bệnh án nhằm làm sai lệch thông tin về khám bệnh, chữa bệnh hoặc lập hồ sơ bệnh án giả hoặc lập hồ sơ bệnh án và các giấy tờ không khác về kết quả khám bệnh, chữa bệnh.

11. Người hành nghề bán thuốc dưới mọi hình thức, trừ các trường hợp sau đây:

- a) Bác sỹ y học cổ truyền, y sỹ y học cổ truyền, lương y bán thuốc cổ truyền;
- b) Người có bài thuốc gia truyền bán thuốc theo bài thuốc gia truyền thuộc quyền sở hữu của mình đã được đăng ký.

12. Sử dụng rượu, bia và đồ uống có cồn khác, ma túy, thuốc lá tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hoặc trong khi khám bệnh, chữa bệnh.

13. Sử dụng hình thức mê tín, dị đoan trong khám bệnh, chữa bệnh.

14. Từ chối tham gia hoạt động khám bệnh, chữa bệnh khi có thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp theo quyết định huy động, điều động của cơ quan, người có thẩm quyền, trừ trường hợp quy định tại điểm a và điểm b khoản 3 Điều 47 của Luật này.

15. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh cung cấp dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh khi thuộc một trong các trường hợp sau đây:

- a) Không có giấy phép hoạt động;
- b) Đang trong thời gian bị đình chỉ hoạt động;
- c) Không đúng phạm vi hoạt động chuyên môn cho phép, trừ trường hợp cấp cứu hoặc thực hiện khám bệnh, chữa bệnh theo quyết định huy động, điều động của cơ quan, người có thẩm quyền khi xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp.

16. Thuê, mượn, cho thuê, cho mượn giấy phép hành nghề hoặc giấy phép hoạt động.

17. Lợi dụng hình ảnh, tư cách của người hành nghề để phát ngôn, tuyên truyền, khuyến khích người bệnh sử dụng phương pháp khám bệnh, chữa bệnh chưa được công nhận.

18. Xâm phạm tính mạng, sức khỏe, xúc phạm danh dự, nhân phẩm của người hành nghề và người khác làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hoặc phá hoại, hủy hoại tài sản của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

19. Ngăn cản người bệnh thuộc trường hợp bắt buộc chữa bệnh vào cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hoặc cố ý thực hiện bắt buộc chữa bệnh đối với người không thuộc trường hợp bắt buộc chữa bệnh.

20. Quảng cáo vượt quá phạm vi hành nghề hoặc vượt quá phạm vi hoạt động chuyên môn đã được cơ quan có thẩm quyền phê duyệt; lợi dụng kiến thức y học để quảng cáo gian dối về khám bệnh, chữa bệnh.

21. Đăng tải các thông tin mang tính quy kết về trách nhiệm của người hành nghề, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khi xảy ra sự cố y khoa mà chưa có kết luận của cơ quan có thẩm quyền.

### **Điều 8. Người đại diện của người bệnh**

1. Một người bệnh chỉ có một người đại diện tại một thời điểm.

2. Người đại diện của người bệnh phải là người có năng lực hành vi dân sự đầy đủ, bao gồm:

- a) Người do người bệnh là người thành niên tự lựa chọn;
- b) Người do thành viên gia đình của người bệnh lựa chọn trong trường hợp người bệnh là người thành niên không thể tự lựa chọn và không có ủy quyền trước khi rơi vào tình trạng không thể hoặc có khó khăn trong nhận thức, làm chủ hành vi;
- c) Người đại diện theo ủy quyền và người đại diện theo pháp luật của người bệnh theo quy định của Bộ luật Dân sự;
- d) Người đại diện theo pháp luật của pháp nhân theo quy định của Bộ luật Dân sự hoặc người được pháp nhân phân công mà pháp nhân đó chịu trách nhiệm quản lý, chăm sóc, nuôi dưỡng người bệnh theo quy định của Bộ luật Dân sự;
- đ) Người không thuộc đối tượng quy định tại các điểm a, b, c và d khoản này nhưng tự nguyện thực hiện nghĩa vụ của người bệnh theo quy định của Bộ luật Dân sự.

3. Việc thay thế người đại diện được thực hiện như sau:

- a) Trường hợp thay thế người đại diện quy định tại điểm a khoản 2 Điều này thì phải có xác nhận của người bệnh;
- b) Trường hợp thay thế người đại diện quy định tại điểm b khoản 2 Điều này thì phải có xác nhận của người bệnh hoặc thành viên gia đình của người bệnh;
- c) Trường hợp người đại diện là cha mẹ đối với con chưa thành niên thì khi thay thế người đại diện không phải có xác nhận của người bệnh;

d) Trường hợp người đại diện là người giám hộ, người do Tòa án chỉ định, người đại diện theo pháp luật của pháp nhân hoặc người được pháp nhân phân công thì việc thay thế người đại diện phải được thực hiện bằng quyết định của cơ quan, tổ chức có thẩm quyền;

đ) Trường hợp người đại diện là người đại diện theo ủy quyền thì việc thay thế người đại diện phải được thực hiện bằng văn bản ủy quyền theo quy định.

4. Quyền và nghĩa vụ của người đại diện, hậu quả pháp lý của hành vi đại diện, thời hạn đại diện, phạm vi đại diện thực hiện theo quy định của Bộ luật Dân sự và quy định khác của pháp luật có liên quan.

## **Chương II** **QUYỀN, NGHĨA VỤ CỦA NGƯỜI BỆNH**

### **Mục 1** **QUYỀN CỦA NGƯỜI BỆNH**

#### **Điều 9. Quyền được khám bệnh, chữa bệnh**

1. Được thông tin, giải thích về tình trạng sức khỏe; phương pháp, dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh, giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh; được hướng dẫn cách tự theo dõi, chăm sóc, phòng ngừa tai biến.

2. Được khám bệnh, chữa bệnh bằng phương pháp an toàn phù hợp với bệnh, tình trạng sức khỏe của mình và điều kiện thực tế của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

#### **Điều 10. Quyền được tôn trọng danh dự, bảo vệ sức khỏe và tôn trọng bí mật riêng tư trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Được tôn trọng về tuổi, giới tính, dân tộc, tôn giáo, tín ngưỡng, tình trạng sức khỏe, điều kiện kinh tế, địa vị xã hội.

2. Được giữ bí mật thông tin trong hồ sơ bệnh án và thông tin khác về đời tư mà người bệnh đã cung cấp cho người hành nghề trong quá trình khám bệnh, chữa bệnh, trừ trường hợp người bệnh đồng ý chia sẻ thông tin theo quy định của pháp luật hoặc trường hợp quy định tại khoản 3 và khoản 4 Điều 69 của Luật này.

3. Không bị kỳ thị, phân biệt đối xử, ngược đãi, lạm dụng thể chất, lạm dụng tinh dục trong quá trình khám bệnh, chữa bệnh.

4. Không bị ép buộc khám bệnh, chữa bệnh, trừ trường hợp bắt buộc chữa bệnh quy định tại khoản 1 Điều 82 của Luật này.

### **Điều 11. Quyền được lựa chọn trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Lựa chọn phương pháp khám bệnh, chữa bệnh sau khi được cung cấp thông tin, giải thích, tư vấn đầy đủ về tình trạng bệnh, kết quả, rủi ro có thể xảy ra, trừ trường hợp quy định tại khoản 4 Điều 40 của Luật này.

2. Chấp nhận hoặc từ chối tham gia nghiên cứu y sinh học về khám bệnh, chữa bệnh.

### **Điều 12. Quyền được cung cấp thông tin về hồ sơ bệnh án và chi phí khám bệnh, chữa bệnh**

1. Được đọc, xem, sao chụp, ghi chép hồ sơ bệnh án và cung cấp tóm tắt hồ sơ bệnh án theo quy định tại điểm d khoản 4 Điều 69 của Luật này.

2. Được cung cấp và giải thích chi tiết về các khoản chi trả dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh khi có yêu cầu.

### **Điều 13. Quyền được từ chối khám bệnh, chữa bệnh và rời khỏi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Được từ chối khám bệnh, chữa bệnh nhưng phải cam kết tự chịu trách nhiệm bằng văn bản về việc từ chối của mình sau khi đã được người hành nghề tư vấn, trừ trường hợp bắt buộc chữa bệnh quy định tại khoản 1 Điều 82 của Luật này.

2. Được rời khỏi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khi chưa kết thúc chữa bệnh trái với chỉ định của người hành nghề nhưng phải cam kết tự chịu trách nhiệm bằng văn bản về việc rời khỏi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, trừ trường hợp bắt buộc chữa bệnh quy định tại khoản 1 Điều 82 của Luật này.

### **Điều 14. Quyền kiến nghị và bồi thường**

1. Được kiến nghị về tồn tại, bất cập, khó khăn, vướng mắc và vấn đề khác trong quá trình khám bệnh, chữa bệnh.

2. Được bồi thường theo quy định tại Điều 102 của Luật này.

### **Điều 15. Việc thực hiện quyền của người bệnh bị mất năng lực hành vi dân sự, có khó khăn trong nhận thức, làm chủ hành vi, hạn chế năng lực hành vi dân sự, người bệnh là người chưa thành niên và người bệnh không có thân nhân**

1. Trường hợp người bệnh là người thành niên và rơi vào tình trạng mất năng lực hành vi dân sự, có khó khăn trong nhận thức, làm chủ hành vi, hạn chế năng lực hành vi dân sự nhưng trước đó đã có văn bản thể hiện nguyện vọng hợp pháp về khám bệnh, chữa bệnh của mình thì thực hiện theo nguyện vọng của người bệnh.

2. Trường hợp người bệnh là người thành niên và rơi vào tình trạng mất năng lực hành vi dân sự, có khó khăn trong nhận thức, làm chủ hành vi, hạn chế năng lực hành vi dân sự nhưng trước đó không có văn bản thể hiện nguyện vọng hợp pháp về khám bệnh, chữa bệnh của mình thì thực hiện như sau:

a) Nếu có người đại diện quy định tại các điểm a, b, c và d khoản 2 Điều 8 của Luật này thì thực hiện theo quyết định của người đại diện;

b) Nếu không có người đại diện quy định tại các điểm a, b, c và d khoản 2 Điều 8 của Luật này thì thực hiện theo quyết định của người chịu trách nhiệm chuyên môn hoặc người trực lãnh đạo của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

3. Trường hợp người bệnh là người chưa thành niên thì thực hiện như sau:

a) Nếu có người đại diện quy định tại điểm c và điểm d khoản 2 Điều 8 của Luật này thì thực hiện theo quyết định của người đại diện;

b) Nếu không có người đại diện quy định tại điểm c và điểm d khoản 2 Điều 8 của Luật này thì thực hiện theo quyết định của người chịu trách nhiệm chuyên môn hoặc người trực lãnh đạo của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

## Mục 2

### NGHĨA VỤ CỦA NGƯỜI BỆNH

**Điều 16. Nghĩa vụ tôn trọng người hành nghề và người khác làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

Tôn trọng người hành nghề; không được đe dọa, xâm phạm tính mạng, sức khỏe, xúc phạm danh dự, nhân phẩm của người hành nghề và người khác làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

**Điều 17. Nghĩa vụ chấp hành các quy định trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Cung cấp trung thực và chịu trách nhiệm về thông tin liên quan đến nhân thân, tình trạng sức khỏe của mình, hợp tác đầy đủ với người hành nghề và người khác làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

2. Chấp hành chỉ định về chẩn đoán, phương pháp chữa bệnh của người hành nghề.

3. Chấp hành và yêu cầu thân nhân, người đến thăm mình chấp hành nội quy của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, quy định của pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh.

**Điều 18. Nghĩa vụ chi trả chi phí khám bệnh, chữa bệnh**

1. Người bệnh tham gia bảo hiểm y tế có nghĩa vụ chi trả chi phí khám bệnh, chữa bệnh ngoài phạm vi được hưởng và mức hưởng theo quy định của pháp luật về bảo hiểm y tế.

2. Người bệnh không tham gia bảo hiểm y tế có nghĩa vụ chi trả chi phí khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của pháp luật.

**Chương III**  
**NGƯỜI HÀNH NGHỀ KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH**

**Mục 1**  
**ĐIỀU KIỆN HÀNH NGHỀ**

**Điều 19. Điều kiện để cá nhân được phép khám bệnh, chữa bệnh**

1. Cá nhân được phép hành nghề khám bệnh, chữa bệnh tại Việt Nam khi đáp ứng đủ các điều kiện sau đây:

- a) Có giấy phép hành nghề đang còn hiệu lực;
- b) Đã đăng ký hành nghề, trừ trường hợp quy định tại khoản 3 Điều 36 của Luật này;
- c) Đáp ứng yêu cầu về sử dụng ngôn ngữ trong khám bệnh, chữa bệnh quy định tại Điều 21 của Luật này;
- d) Có đủ sức khỏe để hành nghề theo quy định của Bộ trưởng Bộ Y tế;
- đ) Không thuộc trường hợp quy định tại Điều 20 của Luật này.

2. Cá nhân được khám bệnh, chữa bệnh mà không cần đáp ứng điều kiện quy định tại các điểm a, b và c khoản 1 Điều này trong các trường hợp sau đây:

- a) Học viên, sinh viên, học sinh đang học tại cơ sở đào tạo thuộc khối ngành sức khỏe, người đang trong thời gian thực hành khám bệnh, chữa bệnh để cấp giấy phép hành nghề, người đang trong thời gian chờ cấp giấy phép hành nghề và chỉ được khám bệnh, chữa bệnh dưới sự giám sát của người hành nghề;
- b) Nhân viên y tế thôn, bản, cô đỡ thôn, bản hoặc nhân viên y tế làm việc tại y tế cơ quan, đơn vị, tổ chức mà không thành lập cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chỉ được khám bệnh, chữa bệnh trong phạm vi hoạt động và sau khi đã hoàn thành chương trình đào tạo theo nội dung chuyên môn, nghiệp vụ do Bộ trưởng Bộ Y tế quy định;
- c) Đối tượng quy định tại khoản 1 Điều 115 của Luật này;
- d) Các đối tượng khác tham gia vào quá trình khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của Chính phủ.

3. Người nước ngoài, người Việt Nam định cư ở nước ngoài đã có giấy phép hành nghề do cơ quan, tổ chức có thẩm quyền của nước ngoài cấp được khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo theo đợt, hợp tác đào tạo về y khoa có thực hành khám bệnh, chữa bệnh hoặc chuyển giao kỹ thuật chuyên môn trong khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của Luật này mà không cần đáp ứng điều kiện quy định tại điểm a và điểm b khoản 1 Điều này.



4. Người tham gia cấp cứu tại cộng đồng mà không phải là cấp cứu viên ngoại viện thì không phải đáp ứng các điều kiện quy định tại khoản 1 Điều này.

**Điều 20. Các trường hợp bị cấm hành nghề khám bệnh, chữa bệnh**

1. Đang bị truy cứu trách nhiệm hình sự về hành vi vi phạm pháp luật có liên quan đến chuyên môn kỹ thuật.

2. Đang trong thời gian thi hành án treo, án phạt cải tạo không giam giữ về hành vi vi phạm pháp luật có liên quan đến chuyên môn kỹ thuật.

3. Đang trong thời gian thử thách đối với người bị kết án phạt tù có liên quan đến chuyên môn kỹ thuật nhưng được tha tù trước thời hạn có điều kiện.

4. Đang trong thời gian thi hành án phạt tù hoặc đang bị áp dụng biện pháp xử lý hành chính đưa vào cơ sở giáo dục bắt buộc, cơ sở cai nghiện bắt buộc.

5. Đang trong thời gian bị cấm hành nghề khám bệnh, chữa bệnh theo bản án hình sự có hiệu lực pháp luật của tòa án hoặc bị hạn chế thực hiện hoạt động khám bệnh, chữa bệnh theo quyết định của cơ quan có thẩm quyền.

6. Mất năng lực hành vi dân sự hoặc có khó khăn trong nhận thức, làm chủ hành vi hoặc hạn chế năng lực hành vi dân sự.

**Điều 21. Sử dụng ngôn ngữ trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Ngôn ngữ sử dụng trong khám bệnh, chữa bệnh là tiếng Việt, trừ các trường hợp quy định tại khoản 2 Điều này.

2. Người hành nghề là người nước ngoài, người Việt Nam định cư ở nước ngoài (sau đây gọi là người hành nghề nước ngoài) được sử dụng ngôn ngữ khác tiếng Việt để khám bệnh, chữa bệnh cho người bệnh thuộc một trong các trường hợp sau đây:

a) Người bệnh có cùng ngôn ngữ mẹ đẻ với người hành nghề; người bệnh có khả năng sử dụng chung ngôn ngữ mà người hành nghề đã đăng ký;

b) Người bệnh là người nước ngoài và không thuộc trường hợp quy định tại điểm a khoản này;

c) Khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo theo đợt; chuyển giao kỹ thuật chuyên môn về khám bệnh, chữa bệnh theo thỏa thuận hợp tác giữa cơ sở khám bệnh, chữa bệnh của Việt Nam với cơ sở y tế của nước ngoài.

3. Việc sử dụng ngôn ngữ trong các trường hợp quy định tại khoản 2 Điều này được thực hiện như sau:

a) Trường hợp khám bệnh, chữa bệnh theo quy định tại điểm b và điểm c khoản 2 Điều này phải có người phiên dịch;

b) Việc ghi thông tin về khám bệnh, chữa bệnh được thực hiện bằng ngôn ngữ đã đăng ký của người hành nghề nước ngoài đồng thời phải được dịch sang tiếng Việt.

4. Chính phủ quy định chi tiết Điều này; quy định tiêu chuẩn của người phiên dịch trong trường hợp quy định tại điểm a khoản 3 Điều này; quy định việc sử dụng ngôn ngữ trong khám bệnh, chữa bệnh cho người dân tộc thiểu số không có khả năng sử dụng tiếng Việt, người khuyết tật về ngôn ngữ, người bệnh là người nước ngoài.

## **Điều 22. Cập nhật kiến thức y khoa liên tục**

1. Người hành nghề thuộc một trong các chức danh bác sỹ, y sỹ, điều dưỡng, hộ sinh, kỹ thuật y, dinh dưỡng lâm sàng, cấp cứu viên ngoại viện và tâm lý lâm sàng có trách nhiệm cập nhật kiến thức y khoa liên tục phù hợp với phạm vi hành nghề.

2. Các hình thức cập nhật kiến thức y khoa liên tục bao gồm:

a) Tham gia các khóa đào tạo, bồi dưỡng ngắn hạn, hội nghị, hội thảo về y khoa phù hợp với phạm vi hành nghề;

b) Tham gia biên soạn giáo trình, tài liệu giảng dạy, tài liệu chuyên môn về khám bệnh, chữa bệnh;

c) Thực hiện các nghiên cứu khoa học, giảng dạy về y khoa thuộc phạm vi hành nghề;

d) Tự cập nhật kiến thức y khoa và các hình thức khác.

3. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm tạo điều kiện để người hành nghề được cập nhật kiến thức y khoa liên tục.

4. Bộ trưởng Bộ Y tế quy định chi tiết Điều này.

## **Mục 2**

### **TỔ CHỨC KIỂM TRA ĐÁNH GIÁ NĂNG LỰC HÀNH NGHỀ KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH**

## **Điều 23. Thực hành khám bệnh, chữa bệnh**

1. Người đề nghị cấp giấy phép hành nghề theo một trong các chức danh bác sỹ, y sỹ, điều dưỡng, hộ sinh, kỹ thuật y, dinh dưỡng lâm sàng, cấp cứu viên ngoại viện và tâm lý lâm sàng phải thực hành khám bệnh, chữa bệnh theo nguyên tắc quy định tại khoản 2 Điều này, trừ các trường hợp sau đây:

a) Đã hoàn thành chương trình đào tạo chuyên khoa;

b) Đã được cấp giấy phép hành nghề do cơ quan, tổ chức có thẩm quyền của nước ngoài cấp và được thừa nhận theo quy định tại Điều 29 của Luật này.

2. Thực hành khám bệnh, chữa bệnh được thực hiện theo nguyên tắc sau đây:

a) Phù hợp với văn bằng chuyên môn được cấp;

b) Thực hiện tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có phạm vi hoạt động chuyên môn phù hợp với nội dung thực hành;

c) Thời gian thực hành phù hợp với từng chức danh chuyên môn;

d) Cơ sở hướng dẫn thực hành phải phân công người hướng dẫn thực hành, phải đăng ký danh sách người thực hành tại cơ sở trên Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh và cấp giấy xác nhận việc thực hành cho người thực hành;

đ) Người hướng dẫn thực hành phải là người hành nghề có phạm vi hành nghề phù hợp với nội dung hướng dẫn thực hành và phải chịu trách nhiệm về hoạt động chuyên môn của người thực hành trong quá trình thực hành, trừ trường hợp người thực hành cố ý vi phạm pháp luật;

e) Người thực hành phải tuân thủ sự phân công, hướng dẫn của người hướng dẫn thực hành và phải tôn trọng các quyền, nghĩa vụ của người bệnh.

3. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

#### **Điều 24. Kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh**

1. Việc kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh trước khi đề nghị cấp giấy phép hành nghề áp dụng đối với các chức danh bác sỹ, y sỹ, điều dưỡng, hộ sinh, kỹ thuật y, dinh dưỡng lâm sàng, cấp cứu viên ngoại viện và tâm lý lâm sàng.

2. Người tham dự kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh phải đáp ứng các điều kiện sau đây:

a) Có văn bằng phù hợp với từng chức danh chuyên môn quy định tại khoản 1 Điều này;

b) Đã hoàn thành việc thực hành khám bệnh, chữa bệnh theo quy định tại Điều 23 của Luật này.

3. Việc kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh do Hội đồng Y khoa Quốc gia chủ trì tổ chức thực hiện.

4. Người tham dự kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh phải chi trả chi phí kiểm tra đánh giá.

5. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

## **Điều 25. Hội đồng Y khoa Quốc gia**

1. Hội đồng Y khoa Quốc gia là tổ chức do Thủ tướng Chính phủ thành lập, có chức năng đánh giá độc lập năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh; có con dấu và trụ sở riêng.

2. Hội đồng Y khoa Quốc gia có các nhiệm vụ sau đây:

a) Chủ trì phối hợp với các tổ chức xã hội - nghề nghiệp về khám bệnh, chữa bệnh và cơ quan, tổ chức khác có liên quan trong việc xây dựng bộ công cụ đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh;

b) Ban hành bộ công cụ đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh;

c) Chủ trì tổ chức kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh;

d) Tiếp nhận, giải quyết kiến nghị, khiếu nại hoặc phối hợp với cơ quan quản lý nhà nước trong việc giải quyết khiếu nại, tố cáo về kết quả kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh;

đ) Thực hiện nhiệm vụ khác theo quy định của Thủ tướng Chính phủ.

3. Thủ tướng Chính phủ quy định tổ chức và hoạt động của Hội đồng Y khoa Quốc gia.

## **Mục 3**

### **GIẤY PHÉP HÀNH NGHỀ**

## **Điều 26. Chức danh chuyên môn phải có giấy phép hành nghề**

1. Chức danh chuyên môn phải có giấy phép hành nghề bao gồm:

a) Bác sỹ;

b) Y sỹ;

c) Điều dưỡng;

d) Hộ sinh;

đ) Kỹ thuật y;

e) Dinh dưỡng lâm sàng;

g) Cấp cứu viên ngoại viện;

h) Tâm lý lâm sàng;

i) Lương y;

k) Người có bài thuốc gia truyền hoặc có phương pháp chữa bệnh gia truyền.

2. Chính phủ quy định chức danh chuyên môn và điều kiện cấp mới, cấp lại, gia hạn, điều chỉnh, đình chỉ hành nghề, thu hồi giấy phép hành nghề đối với chức danh chuyên môn được bổ sung ngoài các chức danh quy định tại khoản 1 Điều này phù hợp với tình hình phát triển kinh tế - xã hội của đất nước trong từng thời kỳ sau khi báo cáo Ủy ban Thường vụ Quốc hội.

3. Bộ trưởng Bộ Y tế quy định phạm vi hành nghề đối với từng chức danh chuyên môn.

### **Điều 27. Giấy phép hành nghề**

1. Mỗi người hành nghề chỉ được cấp 01 giấy phép hành nghề có giá trị trong phạm vi toàn quốc.

2. Giấy phép hành nghề có thời hạn 05 năm.

3. Nội dung của giấy phép hành nghề bao gồm các thông tin cơ bản sau đây:

a) Họ và tên; ngày, tháng, năm sinh; số định danh cá nhân đối với người hành nghề Việt Nam; số hộ chiếu và quốc tịch đối với người hành nghề nước ngoài;

b) Chức danh chuyên môn;

c) Phạm vi hành nghề;

d) Thời hạn của giấy phép hành nghề.

4. Người đề nghị cấp mới, cấp lại, gia hạn, điều chỉnh giấy phép hành nghề phải nộp phí theo quy định của pháp luật về phí và lệ phí, trừ trường hợp do lỗi của cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hành nghề mà phải cấp mới, cấp lại, gia hạn, điều chỉnh.

5. Bộ trưởng Bộ Y tế quy định chi tiết Điều này và quy định mẫu giấy phép hành nghề.

### **Điều 28. Thẩm quyền cấp mới, cấp lại, gia hạn, điều chỉnh giấy phép hành nghề, đình chỉ hành nghề, thu hồi giấy phép hành nghề**

1. Thẩm quyền cấp mới, cấp lại, gia hạn, điều chỉnh giấy phép hành nghề được quy định như sau:

a) Bộ Y tế cấp mới, cấp lại, gia hạn, điều chỉnh giấy phép hành nghề đối với các chức danh bác sỹ, y sỹ, điều dưỡng, hộ sinh, kỹ thuật y, dinh dưỡng lâm sàng, cấp cứu viên ngoại viện và tâm lý lâm sàng đối với người làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc thẩm quyền quản lý;

b) Bộ Quốc phòng cấp mới, cấp lại, gia hạn, điều chỉnh giấy phép hành nghề đối với các chức danh bác sỹ, y sỹ, điều dưỡng, hộ sinh, kỹ thuật y, dinh dưỡng lâm sàng, cấp cứu viên ngoại viện và tâm lý lâm sàng đối với người làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc thẩm quyền quản lý;

c) Bộ Công an cấp mới, cấp lại, gia hạn, điều chỉnh giấy phép hành nghề đối với các chức danh bác sỹ, y sỹ, điều dưỡng, hộ sinh, kỹ thuật y, dinh dưỡng lâm sàng, cấp cứu viên ngoại viện và tâm lý lâm sàng đối với người làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc thẩm quyền quản lý;

d) Cơ quan chuyên môn về y tế thuộc Ủy ban nhân dân cấp tỉnh cấp mới, cấp lại, gia hạn, điều chỉnh giấy phép hành nghề đối với các chức danh chuyên môn quy định tại khoản 1 Điều 26 của Luật này, trừ các trường hợp quy định tại các điểm a, b và c khoản này.

2. Thẩm quyền đình chỉ hành nghề, thu hồi giấy phép hành nghề được quy định như sau:

a) Bộ Y tế đình chỉ hành nghề đối với người hành nghề làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh trên phạm vi toàn quốc; thu hồi giấy phép hành nghề đối với người hành nghề làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc thẩm quyền quản lý;

b) Bộ Quốc phòng đình chỉ hành nghề, thu hồi giấy phép hành nghề đối với người hành nghề làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc thẩm quyền quản lý;

c) Bộ Công an đình chỉ hành nghề, thu hồi giấy phép hành nghề đối với người hành nghề làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc thẩm quyền quản lý;

d) Cơ quan chuyên môn về y tế thuộc Ủy ban nhân dân cấp tỉnh đình chỉ hành nghề đối với người hành nghề làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh trên địa bàn quản lý; thu hồi giấy phép hành nghề đối với người hành nghề thuộc thẩm quyền quản lý.

## **Điều 29. Thừa nhận giấy phép hành nghề do cơ quan, tổ chức có thẩm quyền của nước ngoài cấp**

1. Giấy phép hành nghề do cơ quan, tổ chức có thẩm quyền của nước ngoài cấp được xem xét thừa nhận khi đáp ứng đủ các điều kiện sau đây:

a) Được thừa nhận theo điều ước quốc tế mà nước Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam là thành viên hoặc thỏa thuận quốc tế mà Việt Nam là bên ký kết; giấy phép hành nghề được cấp bởi cơ quan, tổ chức có thẩm quyền của nước ngoài mà cơ quan, tổ chức đó được Bộ Y tế đánh giá để thừa nhận theo quy định tại khoản 3 Điều này;

b) Còn hiệu lực tại thời điểm đề nghị thừa nhận;

c) Có thông tin về chức danh chuyên môn và chức danh đó phải tương đương với một trong các chức danh chuyên môn quy định tại các điểm a, b, c, d, đ, e, g và h khoản 1 Điều 26 của Luật này.

2. Thủ tục thừa nhận giấy phép hành nghề được quy định như sau:

a) Người có giấy phép hành nghề gửi hồ sơ đề nghị thừa nhận giấy phép hành nghề đến Bộ Y tế, bao gồm đơn đề nghị thừa nhận giấy phép hành nghề và bản sao hợp lệ giấy phép hành nghề đã được cấp;

b) Trong thời hạn 30 ngày kể từ ngày nhận được hồ sơ đề nghị, Bộ Y tế phải có văn bản trả lời về việc thừa nhận hoặc không thừa nhận giấy phép hành nghề;

c) Trường hợp cần xác minh đối với việc đào tạo ở nước ngoài của người hành nghề thì thời hạn thừa nhận là 30 ngày kể từ ngày có kết quả xác minh.

3. Nội dung đánh giá để thừa nhận cơ quan, tổ chức cấp phép hành nghề của nước ngoài bao gồm:

a) Đánh giá về hệ thống đào tạo;

b) Đánh giá về hệ thống, quy trình, thủ tục cấp giấy phép hành nghề và các quy định về chức danh, phạm vi hành nghề.

4. Người có giấy phép hành nghề do cơ quan, tổ chức có thẩm quyền của nước ngoài cấp được thừa nhận tại Việt Nam không phải thực hành khám bệnh, chữa bệnh theo quy định tại Điều 23 của Luật này và không phải tham dự kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh theo quy định tại Điều 24 của Luật này.

5. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Điều 30. Cấp mới giấy phép hành nghề**

1. Cấp mới giấy phép hành nghề được áp dụng đối với các trường hợp sau đây:

a) Người lần đầu tiên đề nghị cấp giấy phép hành nghề;

b) Người hành nghề thay đổi chức danh chuyên môn đã được ghi trên giấy phép hành nghề;

c) Người bị thu hồi giấy phép hành nghề thuộc trường hợp cấp mới theo quy định của Chính phủ;

d) Trường hợp khác theo quy định của Chính phủ.

2. Điều kiện cấp mới giấy phép hành nghề đối với các chức danh bác sỹ, y sỹ, điều dưỡng, hộ sinh, kỹ thuật y, dinh dưỡng lâm sàng, cấp cứu viên ngoại viện và tâm lý lâm sàng bao gồm:

a) Được đánh giá đủ năng lực hành nghề qua kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh quy định tại Điều 24 của Luật này hoặc có giấy phép hành nghề được thừa nhận theo quy định tại Điều 29 của Luật này;

- b) Có đủ sức khỏe để hành nghề;
- c) Đáp ứng năng lực tiếng Việt đối với người nước ngoài theo quy định của Chính phủ;
- d) Không thuộc một trong các trường hợp quy định tại Điều 20 của Luật này hoặc bị xử phạt vi phạm hành chính về hành vi khám bệnh, chữa bệnh mà không có giấy phép hành nghề nhưng chưa hết thời hạn được coi là chưa bị xử phạt vi phạm hành chính.

3. Điều kiện cấp mới giấy phép hành nghề đối với các chức danh lương y, người có bài thuốc gia truyền hoặc có phương pháp chữa bệnh gia truyền bao gồm:

- a) Có giấy chứng nhận lương y hoặc giấy chứng nhận người có bài thuốc gia truyền hoặc giấy chứng nhận người có phương pháp chữa bệnh gia truyền;
- b) Đáp ứng điều kiện quy định tại các điểm b, c và d khoản 2 Điều này.

4. Hồ sơ đề nghị cấp mới giấy phép hành nghề bao gồm:

- a) Đơn đề nghị cấp mới giấy phép hành nghề;
- b) Tài liệu chứng minh đáp ứng điều kiện quy định tại khoản 2 hoặc khoản 3 Điều này đối với từng chức danh chuyên môn tương ứng.

5. Thủ tục cấp mới giấy phép hành nghề được quy định như sau:

a) Người đề nghị cấp mới giấy phép hành nghề nộp hồ sơ theo quy định tại khoản 4 Điều này cho cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hành nghề;

b) Cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hành nghề phải cấp mới giấy phép hành nghề trong thời hạn 30 ngày kể từ ngày nhận đủ hồ sơ; trường hợp không cấp mới giấy phép hành nghề thì phải trả lời bằng văn bản và nêu rõ lý do;

c) Trường hợp cần xác minh tài liệu có yếu tố nước ngoài trong hồ sơ đề nghị cấp mới giấy phép hành nghề thì thời hạn cấp mới là 30 ngày kể từ ngày có kết quả xác minh.

6. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Điều 31. Cấp lại giấy phép hành nghề**

1. Cấp lại giấy phép hành nghề áp dụng đối với các trường hợp sau đây:

- a) Giấy phép hành nghề bị mất hoặc hư hỏng;
- b) Thay đổi thông tin quy định tại điểm a khoản 3 Điều 27 của Luật này hoặc có sai sót thông tin quy định tại khoản 3 Điều 27 của Luật này;
- c) Người bị thu hồi giấy phép hành nghề thuộc trường hợp cấp lại theo quy định của Chính phủ;



d) Giấy phép hành nghề được cấp không đúng thẩm quyền;

đ) Trường hợp khác theo quy định của Chính phủ.

2. Điều kiện cấp lại giấy phép hành nghề bao gồm:

a) Đã được cấp giấy phép hành nghề;

b) Đáp ứng các điều kiện phù hợp với nội dung đề nghị cấp lại;

c) Không thuộc một trong các trường hợp quy định tại Điều 20 của Luật này.

3. Hồ sơ đề nghị cấp lại giấy phép hành nghề bao gồm:

a) Đơn đề nghị cấp lại giấy phép hành nghề;

b) Tài liệu chứng minh đáp ứng điều kiện quy định tại khoản 2 Điều này.

4. Thủ tục cấp lại giấy phép hành nghề được quy định như sau:

a) Người đề nghị cấp lại giấy phép hành nghề nộp hồ sơ theo quy định tại khoản 3 Điều này cho cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hành nghề;

b) Cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hành nghề phải cấp lại giấy phép hành nghề trong thời hạn 15 ngày kể từ ngày nhận đủ hồ sơ; trường hợp không cấp lại giấy phép hành nghề thì phải trả lời bằng văn bản và nêu rõ lý do;

c) Trường hợp cần xác minh tài liệu có yếu tố nước ngoài trong hồ sơ đề nghị cấp lại giấy phép hành nghề thì thời hạn cấp lại là 15 ngày kể từ ngày có kết quả xác minh.

5. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Điều 32. Gia hạn giấy phép hành nghề**

1. Gia hạn giấy phép hành nghề áp dụng đối với trường hợp giấy phép hành nghề hết hạn.

2. Điều kiện gia hạn giấy phép hành nghề đối với các chức danh bác sỹ, y sỹ, điều dưỡng, hộ sinh, kỹ thuật y, dinh dưỡng lâm sàng, cấp cứu viên ngoại viện, tâm lý lâm sàng và lương y bao gồm:

a) Đáp ứng yêu cầu về cập nhật kiến thức y khoa liên tục theo quy định tại Điều 22 của Luật này;

b) Có đủ sức khỏe để hành nghề;

c) Phải thực hiện thủ tục gia hạn ít nhất 60 ngày trước thời điểm giấy phép hành nghề hết hạn, trừ trường hợp khác theo quy định của Chính phủ;

d) Không thuộc một trong các trường hợp quy định tại Điều 20 của Luật này.

3. Điều kiện gia hạn giấy phép hành nghề đối với chức danh người có bài thuốc gia truyền hoặc có phương pháp chữa bệnh gia truyền bao gồm điều kiện quy định tại các điểm b, c và d khoản 2 Điều này.

4. Hồ sơ đề nghị gia hạn giấy phép hành nghề bao gồm tài liệu chứng minh đáp ứng điều kiện quy định tại khoản 2 hoặc khoản 3 Điều này.

5. Thủ tục gia hạn giấy phép hành nghề được quy định như sau:

a) Người đề nghị gia hạn giấy phép hành nghề nộp hồ sơ theo quy định tại khoản 4 Điều này cho cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hành nghề;

b) Trong thời gian kể từ khi nhận đủ hồ sơ đến ngày hết hạn ghi trên giấy phép hành nghề, cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hành nghề có trách nhiệm thực hiện việc gia hạn hoặc phải trả lời bằng văn bản và nêu rõ lý do nếu không thực hiện việc gia hạn; trường hợp đến ngày hết hạn ghi trên giấy phép hành nghề mà không có văn bản trả lời thì giấy phép hành nghề tiếp tục có hiệu lực theo quy định tại khoản 2 Điều 27 của Luật này;

c) Trường hợp cần xác minh việc cập nhật kiến thức y khoa liên tục của người hành nghề theo chương trình do cơ quan, tổ chức nước ngoài thực hiện thì thời hạn gia hạn là 15 ngày kể từ ngày có kết quả xác minh.

6. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Điều 33. Điều chỉnh giấy phép hành nghề**

1. Điều chỉnh giấy phép hành nghề đối với các chức danh bác sỹ, y sỹ, điều dưỡng, hộ sinh, kỹ thuật y, dinh dưỡng lâm sàng, cấp cứu viên ngoại viện và tâm lý lâm sàng khi bổ sung, thay đổi phạm vi hành nghề khám bệnh, chữa bệnh.

2. Điều kiện điều chỉnh giấy phép hành nghề bao gồm:

a) Đã hoàn thành chương trình đào tạo về chuyên môn kỹ thuật phù hợp với phạm vi hành nghề đề nghị điều chỉnh do cơ sở đào tạo, bệnh viện cấp;

b) Đáp ứng yêu cầu về thực hành khám bệnh, chữa bệnh đối với một số lĩnh vực chuyên môn;

c) Không thuộc một trong các trường hợp quy định tại Điều 20 của Luật này.

3. Hồ sơ đề nghị điều chỉnh giấy phép hành nghề bao gồm:

a) Đơn đề nghị điều chỉnh giấy phép hành nghề;

b) Tài liệu chứng minh đáp ứng đủ điều kiện quy định tại khoản 2 Điều này.

4. Thủ tục điều chỉnh giấy phép hành nghề được quy định như sau:

a) Người đề nghị điều chỉnh giấy phép hành nghề nộp hồ sơ theo quy định tại khoản 3 Điều này cho cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hành nghề;

b) Cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hành nghề phải điều chỉnh giấy phép hành nghề trong thời hạn 15 ngày kể từ ngày nhận đủ hồ sơ; trường hợp không điều chỉnh giấy phép hành nghề thì phải trả lời bằng văn bản và nêu rõ lý do;

c) Trường hợp cần xác minh tài liệu có yếu tố nước ngoài trong hồ sơ đề nghị điều chỉnh giấy phép hành nghề thì thời hạn điều chỉnh là 15 ngày kể từ ngày có kết quả xác minh.

5. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Điều 34. Đình chỉ hành nghề**

1. Người hành nghề bị đình chỉ hành nghề trong các trường hợp sau đây:

a) Bị Hội đồng chuyên môn quy định tại Điều 101 của Luật này xác định có sai sót chuyên môn kỹ thuật đến mức phải đình chỉ hành nghề nhưng chưa đến mức bị thu hồi giấy phép hành nghề;

b) Bị cơ quan có thẩm quyền kết luận có vi phạm đạo đức nghề nghiệp nhưng chưa đến mức phải thu hồi giấy phép hành nghề;

c) Không đủ sức khỏe để hành nghề.

2. Tùy theo tính chất, mức độ sai sót chuyên môn kỹ thuật, vi phạm đạo đức nghề nghiệp, tình trạng sức khỏe, người hành nghề bị đình chỉ hành nghề trong thời hạn từ 01 tháng đến 24 tháng.

3. Sau khi bị đình chỉ hành nghề, tùy tính chất, mức độ sai sót chuyên môn kỹ thuật mà người hành nghề phải cập nhật kiến thức y khoa theo kết luận của Hội đồng chuyên môn quy định tại Điều 101 của Luật này.

4. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Điều 35. Thu hồi giấy phép hành nghề**

1. Giấy phép hành nghề bị thu hồi trong trường hợp sau đây:

a) Hồ sơ đề nghị cấp giấy phép hành nghề không đúng quy định;

b) Giả mạo tài liệu trong hồ sơ đề nghị cấp giấy phép hành nghề;

c) Cấp sai chức danh chuyên môn hoặc phạm vi hành nghề trong giấy phép hành nghề so với hồ sơ đề nghị cấp giấy phép hành nghề;

d) Người hành nghề không hành nghề trong thời gian 24 tháng liên tục, trừ trường hợp tham gia chương trình đào tạo chuyên khoa;

đ) Người hành nghề thuộc một trong các trường hợp bị cấm hành nghề quy định tại các khoản 1, 2, 3, 4 và 6 Điều 20 của Luật này;

e) Người hành nghề bị Hội đồng chuyên môn quy định tại Điều 101 của Luật này xác định có sai sót chuyên môn kỹ thuật đến mức phải thu hồi giấy phép hành nghề;

g) Người hành nghề lần thứ hai bị Hội đồng chuyên môn quy định tại Điều 101 của Luật này xác định có sai sót chuyên môn kỹ thuật đến mức phải đình chỉ hành nghề trong thời hạn của giấy phép hành nghề;

h) Người hành nghề lần thứ hai bị cơ quan nhà nước có thẩm quyền xác định là có vi phạm đạo đức nghề nghiệp đến mức phải đình chỉ hành nghề trong thời hạn của giấy phép hành nghề;

i) Người hành nghề tự đề nghị thu hồi giấy phép hành nghề;

k) Trường hợp khác do Chính phủ quy định sau khi đã báo cáo Ủy ban Thường vụ Quốc hội.

2. Sau khi thu hồi giấy phép hành nghề, trường hợp muốn tiếp tục hành nghề, người hành nghề phải đề nghị cấp mới giấy phép hành nghề quy định tại điểm c khoản 1 Điều 30 của Luật này hoặc đề nghị cấp lại giấy phép hành nghề quy định tại điểm c khoản 1 Điều 31 của Luật này.

3. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

## **Mục 4**

### **ĐĂNG KÝ HÀNH NGHỀ**

#### **Điều 36. Nguyên tắc đăng ký hành nghề**

1. Người hành nghề được đăng ký hành nghề tại nhiều cơ sở khám bệnh, chữa bệnh nhưng không được trùng thời gian khám bệnh, chữa bệnh giữa các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

2. Người hành nghề được đăng ký làm việc tại một hoặc nhiều vị trí chuyên môn sau đây trong cùng một cơ sở khám bệnh, chữa bệnh nhưng phải bảo đảm chất lượng công việc tại các vị trí được phân công:

- a) Khám bệnh, chữa bệnh theo giấy phép hành nghề;
- b) Phụ trách một bộ phận chuyên môn;
- c) Chịu trách nhiệm chuyên môn của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

3. Người hành nghề được khám bệnh, chữa bệnh mà không phải đăng ký hành nghề trong các trường hợp sau đây:

- a) Hoạt động cấp cứu ngoài cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, trừ cấp cứu viên ngoại viện;
- b) Được cơ quan, người có thẩm quyền huy động, điều động tham gia hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp;

c) Khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo theo đợt;

d) Khám bệnh, chữa bệnh trong quá trình chuyển giao kỹ thuật chuyên môn, hỗ trợ chuyên môn kỹ thuật ở cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khác trong thời gian ngắn hạn;

đ) Trường hợp khác theo quy định của Bộ trưởng Bộ Y tế.

### **Điều 37. Nội dung đăng ký hành nghề**

1. Họ và tên, số giấy phép hành nghề của người hành nghề.

2. Chức danh, vị trí chuyên môn của người hành nghề.

3. Địa điểm hành nghề, bao gồm tên, địa chỉ của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh nơi đăng ký hành nghề.

4. Thời gian hành nghề.

5. Ngôn ngữ mà người hành nghề nước ngoài sử dụng trong khám bệnh, chữa bệnh đối với các trường hợp quy định tại điểm a và điểm b khoản 2 Điều 21 của Luật này.

### **Điều 38. Trách nhiệm trong đăng ký hành nghề**

1. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thực hiện đăng ký hành nghề cho người hành nghề làm việc tại cơ sở của mình như sau:

a) Gửi danh sách đăng ký hành nghề cùng với đề nghị cấp mới giấy phép hoạt động đến cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động;

b) Trường hợp có thay đổi về người hành nghề trong thời gian chờ cấp giấy phép hoạt động hoặc trong quá trình hoạt động thì phải gửi văn bản đăng ký đến cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động.

2. Cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động có trách nhiệm công bố công khai danh sách người hành nghề trên Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh như sau:

a) Cùng thời điểm cấp giấy phép hoạt động đối với trường hợp quy định tại điểm a khoản 1 Điều này và trường hợp có thay đổi về người hành nghề trong thời gian chờ cấp giấy phép hoạt động quy định tại điểm b khoản 1 Điều này;

b) Trong thời hạn 05 ngày làm việc kể từ thời điểm tiếp nhận văn bản đăng ký hành nghề đối với trường hợp thay đổi người hành nghề trong quá trình hoạt động của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quy định tại điểm b khoản 1 Điều này.

3. Chính phủ quy định chi tiết về đăng ký hành nghề tại Mục 4 Chương III của Luật này.

## **Mục 5**

### **QUYỀN CỦA NGƯỜI HÀNH NGHỀ**

#### **Điều 39. Quyền hành nghề**

1. Được hành nghề khám bệnh, chữa bệnh theo đúng phạm vi hành nghề cho phép.
2. Được quyết định về việc chẩn đoán, phương pháp chữa bệnh trong phạm vi hành nghề cho phép.
3. Được hành nghề khám bệnh, chữa bệnh tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khác nhau nhưng phải tuân thủ quy định về đăng ký hành nghề của Luật này.
4. Được tham gia các tổ chức xã hội - nghề nghiệp về khám bệnh, chữa bệnh.

#### **Điều 40. Quyền từ chối khám bệnh, chữa bệnh**

Người hành nghề được từ chối khám bệnh, chữa bệnh trong các trường hợp sau đây:

1. Tiên lượng tình trạng bệnh vượt quá khả năng hoặc không thuộc phạm vi hành nghề của mình nhưng phải giới thiệu người bệnh đến người hành nghề khác hoặc cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khác phù hợp để khám bệnh, chữa bệnh và phải thực hiện việc sơ cứu, cấp cứu, theo dõi, chăm sóc, điều trị người bệnh cho đến khi người bệnh được người hành nghề khác tiếp nhận hoặc chuyển đi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khác;
2. Việc khám bệnh, chữa bệnh trái với quy định của pháp luật hoặc đạo đức nghề nghiệp;
3. Người bệnh, thân nhân của người bệnh có hành vi xâm phạm thân thể, sức khỏe, tính mạng của người hành nghề khi đang thực hiện nhiệm vụ, trừ trường hợp người đó mắc bệnh tâm thần hoặc bệnh khác mà không nhận thức, làm chủ được hành vi;
4. Người bệnh yêu cầu phương pháp khám bệnh, chữa bệnh không phù hợp với quy định về chuyên môn kỹ thuật;
5. Người bệnh, người đại diện của người bệnh quy định tại điểm a khoản 2 và điểm a khoản 3 Điều 15 của Luật này không chấp hành chỉ định về chẩn đoán, phương pháp chữa bệnh của người hành nghề sau khi đã được người hành nghề tư vấn, vận động thuyết phục mà việc không chấp hành này có nguy cơ gây hại đến sức khỏe, tính mạng của người bệnh.

#### **Điều 41. Quyền được nâng cao năng lực chuyên môn**

1. Được đào tạo, phát triển năng lực chuyên môn.

2. Được cập nhật kiến thức y khoa liên tục phù hợp với phạm vi hành nghề.
3. Được tham gia bồi dưỡng, trao đổi thông tin về chuyên môn, kiến thức pháp luật về y tế.

**Điều 42. Quyền được bảo vệ khi xảy ra sự cố y khoa**

1. Được pháp luật bảo vệ và không phải chịu trách nhiệm khi đã thực hiện đúng quy định mà vẫn xảy ra sự cố y khoa.
2. Được đề nghị cơ quan, tổ chức, tổ chức xã hội - nghề nghiệp về khám bệnh, chữa bệnh bảo vệ quyền, lợi ích hợp pháp của mình khi xảy ra sự cố y khoa.

**Điều 43. Quyền được bảo đảm an toàn khi hành nghề khám bệnh, chữa bệnh**

1. Được bảo đảm an toàn, vệ sinh lao động khi làm việc theo quy định của pháp luật về an toàn, vệ sinh lao động.
2. Được bảo vệ danh dự, nhân phẩm, sức khỏe và tính mạng.
3. Được phép tạm rời khỏi nơi làm việc trong trường hợp bị người khác đe dọa đến sức khỏe, tính mạng nhưng phải báo cáo ngay với người chịu trách nhiệm chuyên môn hoặc người trực lãnh đạo của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh và với cơ quan công an hoặc chính quyền địa phương nơi gần nhất.

**Mục 6**

**NGHĨA VỤ CỦA NGƯỜI HÀNH NGHỀ**

**Điều 44. Nghĩa vụ đối với người bệnh**

1. Kịp thời sơ cứu, cấp cứu, khám bệnh, chữa bệnh cho người bệnh, trừ trường hợp quy định tại các khoản 2, 3, 4 và 5 Điều 40 của Luật này.
2. Tôn trọng các quyền của người bệnh, có thái độ ân cần, hòa nhã với người bệnh.
3. Tư vấn, cung cấp thông tin theo quy định tại khoản 1 Điều 9 của Luật này.
4. Đối xử bình đẳng với người bệnh, không để lợi ích cá nhân hay sự phân biệt đối xử ảnh hưởng đến quyết định chuyên môn của mình.
5. Chỉ được yêu cầu người bệnh chi trả các chi phí khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của pháp luật.

**Điều 45. Nghĩa vụ đối với nghề nghiệp**

1. Tuân thủ quy định về chuyên môn kỹ thuật.
2. Chịu trách nhiệm về việc khám bệnh, chữa bệnh của mình.

3. Thường xuyên học tập, cập nhật kiến thức y khoa liên tục.
4. Tận tâm trong quá trình khám bệnh, chữa bệnh.
5. Giữ bí mật tình trạng bệnh của người bệnh, những thông tin mà người bệnh đã cung cấp và hồ sơ bệnh án, trừ trường hợp người bệnh đồng ý chia sẻ thông tin và trường hợp quy định tại khoản 3 và khoản 4 Điều 69 của Luật này.
6. Thông báo với người có thẩm quyền về người hành nghề có hành vi lừa dối người bệnh hoặc vi phạm quy định của Luật này.

#### **Điều 46. Nghĩa vụ đối với đồng nghiệp**

1. Hợp tác với đồng nghiệp trong khám bệnh, chữa bệnh.
2. Tôn trọng danh dự và uy tín của đồng nghiệp.

#### **Điều 47. Nghĩa vụ đối với xã hội**

1. Tham gia cấp cứu, bảo vệ sức khỏe và giáo dục sức khỏe tại cộng đồng.
2. Tham gia giám sát về năng lực chuyên môn và đạo đức nghề nghiệp của người hành nghề khác.
3. Chấp hành quyết định luân phiên có thời hạn của cơ quan quản lý trực tiếp; quyết định huy động, điều động của cơ quan, người có thẩm quyền về việc tham gia hoạt động khám bệnh, chữa bệnh khi có thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp, trừ các trường hợp sau đây:
  - a) Người hành nghề đang mang thai hoặc đang nuôi con dưới 24 tháng tuổi, trừ trường hợp người đó tự nguyện;
  - b) Người hành nghề thuộc nhóm nguy cơ cao đối với các bệnh dịch và trường hợp khác theo quy định của Bộ trưởng Bộ Y tế.

## **Chương IV CƠ SỞ KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH**

### **Mục 1 GIẤY PHÉP HOẠT ĐỘNG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH**

#### **Điều 48. Hình thức tổ chức của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Các hình thức tổ chức của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh bao gồm:
  - a) Bệnh viện;
  - b) Bệnh xá thuộc lực lượng vũ trang nhân dân;



- c) Nhà hộ sinh;
- d) Phòng khám;
- đ) Phòng chẩn trị y học cổ truyền;
- e) Cơ sở dịch vụ cận lâm sàng;
- g) Trạm y tế;
- h) Cơ sở cấp cứu ngoại viện;
- i) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh y học gia đình;

k) Hình thức tổ chức khác của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của Chính phủ.

2. Trường hợp cơ sở giám định y khoa, cơ sở giám định pháp y, cơ sở pháp y tâm thần, trung tâm y tế, viện có giường bệnh, y tế cơ quan, đơn vị, tổ chức hoặc cơ sở có tên gọi khác mà thực hiện khám bệnh, chữa bệnh thì việc cấp giấy phép hoạt động phải thực hiện theo một trong các hình thức tổ chức của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quy định tại khoản 1 Điều này.

3. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

#### **Điều 49. Điều kiện hoạt động của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

- 1. Đã được cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động.
- 2. Bảo đảm tiêu chuẩn chất lượng cơ bản quy định tại điểm a khoản 1 Điều 57 của Luật này trong quá trình hoạt động.

#### **Điều 50. Giấy phép hoạt động của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Mỗi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có một giấy phép hoạt động và không có thời hạn. Trường hợp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có thêm cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tại địa điểm khác thì mỗi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phải có một giấy phép hoạt động riêng.

2. Nội dung của giấy phép hoạt động bao gồm các thông tin cơ bản sau đây:

- a) Tên cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;
- b) Hình thức tổ chức;
- c) Địa chỉ hoạt động;
- d) Phạm vi hoạt động chuyên môn;
- đ) Thời gian làm việc hằng ngày.

3. Cơ sở đề nghị cấp mới, cấp lại, điều chỉnh giấy phép hoạt động phải nộp phí theo quy định của pháp luật về phí và lệ phí, trừ trường hợp do lỗi của cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động mà phải cấp mới, cấp lại, điều chỉnh.

4. Trong thời hạn 05 ngày làm việc kể từ ngày cấp mới, cấp lại, điều chỉnh giấy phép hoạt động, cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động phải cập nhật thông tin liên quan đến việc cấp mới, cấp lại, điều chỉnh giấy phép hoạt động trên Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh.

5. Chính phủ quy định chi tiết các trường hợp, điều kiện, hồ sơ, thủ tục cấp mới, cấp lại, điều chỉnh giấy phép hoạt động đối với từng hình thức tổ chức của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quy định tại Điều 48 của Luật này; quy định mẫu giấy phép hoạt động của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh và các điều kiện đặc thù đối với các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc lực lượng vũ trang nhân dân.

**Điều 51. Thẩm quyền cấp mới, cấp lại, điều chỉnh giấy phép hoạt động, đình chỉ hoạt động và thu hồi giấy phép hoạt động đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Bộ Y tế cấp mới, cấp lại, điều chỉnh giấy phép hoạt động, đình chỉ hoạt động và thu hồi giấy phép hoạt động đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh trực thuộc Bộ Y tế; đình chỉ hoạt động của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khác trên phạm vi toàn quốc.

2. Bộ Quốc phòng cấp mới, cấp lại, điều chỉnh giấy phép hoạt động, đình chỉ hoạt động và thu hồi giấy phép hoạt động đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc thẩm quyền quản lý.

3. Bộ Công an cấp mới, cấp lại, điều chỉnh giấy phép hoạt động, đình chỉ hoạt động và thu hồi giấy phép hoạt động đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc thẩm quyền quản lý.

4. Cơ quan chuyên môn về y tế thuộc Ủy ban nhân dân cấp tỉnh cấp mới, cấp lại, điều chỉnh và thu hồi giấy phép hoạt động đối với các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh trên địa bàn quản lý, trừ trường hợp quy định tại các khoản 1, 2 và 3 Điều này; đình chỉ hoạt động đối với các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hoạt động trên địa bàn quản lý.

**Điều 52. Cấp mới giấy phép hoạt động**

1. Cấp mới giấy phép hoạt động được áp dụng đối với các trường hợp sau đây:

- a) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh lần đầu tiên đề nghị cấp giấy phép hoạt động;
- b) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh bị thu hồi giấy phép hoạt động, trừ trường hợp quy định tại điểm d khoản 1 Điều 56 của Luật này;
- c) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đã được cấp giấy phép hoạt động nhưng thay đổi hình thức tổ chức hoặc địa điểm;
- d) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đã được cấp giấy phép hoạt động nhưng chia tách, hợp nhất, sáp nhập;
- đ) Trường hợp khác theo quy định của Chính phủ.

2. Điều kiện cấp mới giấy phép hoạt động bao gồm:

- a) Được thành lập theo quy định của pháp luật;
- b) Có cơ cấu tổ chức phù hợp với từng hình thức tổ chức của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;
- c) Có địa điểm hoạt động;
- d) Có cơ sở vật chất phù hợp với phạm vi hoạt động chuyên môn và quy mô của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, trong đó hạ tầng công nghệ thông tin phải bảo đảm kết nối với Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh theo quy định tại khoản 1 Điều 112 của Luật này;
- đ) Có đủ thiết bị y tế, phương tiện phù hợp với phạm vi hoạt động chuyên môn và quy mô của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;
- e) Có đủ người hành nghề phù hợp với phạm vi hoạt động chuyên môn và quy mô của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh; cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phải có người chịu trách nhiệm chuyên môn và mỗi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chỉ có một người chịu trách nhiệm chuyên môn.

3. Hồ sơ đề nghị cấp mới giấy phép hoạt động bao gồm:

- a) Đơn đề nghị cấp mới giấy phép hoạt động;
- b) Tài liệu chứng minh cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đáp ứng điều kiện quy định tại khoản 2 Điều này.

4. Thủ tục cấp mới giấy phép hoạt động được quy định như sau:

- a) Hồ sơ đề nghị cấp mới nộp cho cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động;
- b) Cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động có trách nhiệm thẩm định. Thời hạn thẩm định không quá 60 ngày kể từ ngày nhận đủ hồ sơ. Kết quả thẩm định phải được thể hiện bằng biên bản thẩm định, trong đó nêu rõ các nội dung yêu cầu sửa đổi, bổ sung (nếu có) và phải có chữ ký của các bên tham gia thẩm định, cơ sở được thẩm định;
- c) Trong thời hạn 10 ngày làm việc kể từ ngày ban hành biên bản thẩm định, cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động phải cấp mới giấy phép hoạt động; trường hợp cơ sở phải thực hiện các nội dung sửa đổi, bổ sung theo yêu cầu nêu tại biên bản thẩm định thì trong thời hạn 10 ngày làm việc kể từ ngày hoàn thành việc sửa đổi, bổ sung, cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động phải cấp mới giấy phép hoạt động.

5. Chính phủ quy định chi tiết Điều này; quy định việc cấp mới giấy phép hoạt động đối với các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc lực lượng vũ trang nhân dân.

### **Điều 53. Cấp lại giấy phép hoạt động**

1. Cấp lại giấy phép hoạt động được áp dụng đối với các trường hợp sau đây:

- a) Giấy phép hoạt động bị mất;
- b) Giấy phép hoạt động bị hư hỏng;
- c) Giấy phép hoạt động có sai sót thông tin.

2. Hồ sơ đề nghị cấp lại giấy phép hoạt động bao gồm:

- a) Đơn đề nghị cấp lại giấy phép hoạt động;
- b) Bản gốc giấy phép hoạt động, trừ trường hợp quy định tại điểm a khoản 1 Điều này;
- c) Tài liệu chứng minh đối với trường hợp quy định tại điểm c khoản 1 Điều này.

3. Thủ tục cấp lại giấy phép hoạt động được quy định như sau:

- a) Hồ sơ đề nghị cấp lại nộp cho cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động;
- b) Trong thời hạn 20 ngày kể từ ngày nhận đủ hồ sơ, cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động có trách nhiệm cấp lại giấy phép hoạt động. Trường hợp phải thẩm định thực tế tại cơ sở thì thực hiện theo thủ tục quy định tại điểm b và điểm c khoản 4 Điều 52 của Luật này.

4. Chính phủ quy định chi tiết Điều này; quy định việc cấp lại giấy phép hoạt động đối với các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc lực lượng vũ trang nhân dân.

### **Điều 54. Điều chỉnh giấy phép hoạt động**

1. Điều chỉnh giấy phép hoạt động trong các trường hợp sau đây:

- a) Thay đổi phạm vi hoạt động chuyên môn;
- b) Thay đổi quy mô hoạt động;
- c) Thay đổi thời gian làm việc;
- d) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không thay đổi địa điểm nhưng thay đổi tên, địa chỉ;
- đ) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh bị đình chỉ một phần hoạt động khi hết thời hạn đình chỉ mà không hoàn thành việc khắc phục đầy đủ các nội dung yêu cầu tại văn bản đình chỉ.

2. Điều kiện điều chỉnh giấy phép hoạt động bao gồm:

- a) Có giấy phép hoạt động đang còn hiệu lực;

b) Đáp ứng các điều kiện phù hợp với nội dung đề nghị điều chỉnh theo quy định của pháp luật.

3. Hồ sơ điều chỉnh giấy phép hoạt động bao gồm:

a) Đơn đề nghị điều chỉnh giấy phép hoạt động;

b) Bản gốc giấy phép hoạt động và tài liệu chứng minh việc thay đổi quy định tại điểm b khoản 2 Điều này.

4. Thủ tục điều chỉnh giấy phép hoạt động được quy định như sau:

a) Hồ sơ đề nghị điều chỉnh nộp cho cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động;

b) Trong thời hạn 20 ngày kể từ ngày nhận đủ hồ sơ, cơ quan có thẩm quyền cấp giấy phép hoạt động có trách nhiệm điều chỉnh giấy phép hoạt động. Trường hợp phải thẩm định thực tế tại cơ sở thì thực hiện theo thủ tục quy định tại điểm b và điểm c khoản 4 Điều 52 của Luật này.

5. Chính phủ quy định chi tiết Điều này; quy định việc điều chỉnh giấy phép hoạt động đối với các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc lực lượng vũ trang nhân dân.

#### **Điều 55. Đình chỉ hoạt động đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh bị đình chỉ một phần hoặc toàn bộ hoạt động trong các trường hợp sau đây:

a) Xảy ra sự cố y khoa tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đến mức phải đình chỉ hoạt động;

b) Không bảo đảm một trong các điều kiện quy định tại Điều 49 của Luật này;

c) Không bảo đảm một trong các điều kiện quy định tại khoản 2 Điều 52 của Luật này.

2. Thời hạn đình chỉ hoạt động từ 01 tháng đến 24 tháng.

3. Việc đình chỉ một phần hoặc toàn bộ hoạt động của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh và thời hạn đình chỉ phải căn cứ vào nguyên nhân, tính chất, mức độ, hậu quả của sự cố y khoa hoặc phần điều kiện hoạt động không còn bảo đảm.

4. Trong thời hạn bị đình chỉ hoạt động, nếu cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đã hoàn thành việc khắc phục đầy đủ các nội dung yêu cầu tại văn bản đình chỉ, cơ quan có thẩm quyền đình chỉ hoạt động cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quyết định cho phép cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hoạt động trở lại.

5. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Điều 56. Thu hồi giấy phép hoạt động cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Giấy phép hoạt động bị thu hồi trong các trường hợp sau đây:
  - a) Hồ sơ đề nghị cấp giấy phép hoạt động không đúng quy định;
  - b) Giả mạo giấy tờ trong hồ sơ đề nghị cấp giấy phép hoạt động;
  - c) Giấy phép hoạt động được cấp không đúng thẩm quyền;
  - d) Giấy phép hoạt động có sai sót thông tin;
  - đ) Cấp sai hình thức tổ chức, phạm vi hoạt động chuyên môn;
  - e) Sau 24 tháng kể từ ngày được cấp giấy phép hoạt động mà cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không hoạt động;
  - g) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tạm dừng hoạt động từ 24 tháng liên tục trở lên hoặc chấm dứt hoạt động;
  - h) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh bị đình chỉ toàn bộ hoạt động khi hết thời hạn đình chỉ mà không hoàn thành việc khắc phục đầy đủ các nội dung yêu cầu tại văn bản đình chỉ;
  - i) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không bảo đảm duy trì đầy đủ các điều kiện quy định tại Điều 49 hoặc khoản 2 Điều 52 của Luật này;
  - k) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tự đề nghị thu hồi giấy phép hoạt động.
2. Chính phủ quy định chi tiết Điều này. Trường hợp cần thiết phải bổ sung các trường hợp thu hồi giấy phép hoạt động, Chính phủ báo cáo Ủy ban Thường vụ Quốc hội trước khi ban hành.

## **Mục 2**

### **ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG CƠ SỞ KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH**

#### **Điều 57. Tiêu chuẩn chất lượng đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Tiêu chuẩn chất lượng là các tiêu chuẩn, yêu cầu về quản lý và chuyên môn kỹ thuật dùng làm cơ sở để đánh giá chất lượng của dịch vụ kỹ thuật hoặc của từng chuyên khoa hoặc của toàn bộ cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đã được cấp giấy phép hoạt động, bao gồm:
  - a) Tiêu chuẩn chất lượng cơ bản đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh do Bộ Y tế ban hành;
  - b) Tiêu chuẩn chất lượng nâng cao đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh do Bộ Y tế ban hành;
  - c) Tiêu chuẩn chất lượng đối với từng chuyên khoa hoặc dịch vụ kỹ thuật do Bộ Y tế ban hành;

d) Tiêu chuẩn chất lượng đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hoặc từng chuyên khoa hoặc dịch vụ kỹ thuật do tổ chức trong nước, tổ chức nước ngoài ban hành được Bộ Y tế thừa nhận.

2. Khuyến khích cơ sở khám bệnh, chữa bệnh áp dụng tiêu chuẩn chất lượng quy định tại các điểm b, c và d khoản 1 Điều này.

3. Tiêu chuẩn chất lượng quy định tại điểm d khoản 1 Điều này phải phù hợp với điều kiện tại Việt Nam, không thấp hơn tiêu chuẩn chất lượng quy định tại điểm a khoản 1 Điều này và bảo đảm các yêu cầu tối thiểu sau đây:

- a) Bảo đảm tính khoa học và hiệu quả;
- b) Bảo đảm đánh giá được tổng thể các đặc tính chất lượng và thành tố chất lượng;
- c) Được các tổ chức quốc tế về chất lượng khám bệnh, chữa bệnh thừa nhận, đã được áp dụng trên thế giới.

4. Bộ trưởng Bộ Y tế quy định việc thừa nhận tiêu chuẩn chất lượng quy định tại điểm d khoản 1 Điều này.

**Điều 58. Đánh giá và chứng nhận chất lượng đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Việc đánh giá và chứng nhận chất lượng nhằm mục đích sau đây:

- a) Duy trì và cải tiến chất lượng hoạt động của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;
- b) Cung cấp thông tin để người bệnh và các bên chi trả có thể lựa chọn cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phù hợp;
- c) Làm căn cứ để kiến nghị xử lý vi phạm và khen thưởng đối với kết quả đánh giá theo tiêu chuẩn chất lượng cơ bản.

2. Nguyên tắc đánh giá chất lượng cơ sở khám bệnh, chữa bệnh bao gồm:

- a) Độc lập, khách quan, trung thực, công khai, minh bạch, đúng pháp luật;
- b) Phù hợp với tiêu chuẩn chất lượng khám bệnh, chữa bệnh đã được Bộ Y tế ban hành hoặc thừa nhận;
- c) Chỉ thực hiện đánh giá chất lượng sau khi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được cấp giấy phép hoạt động ít nhất đủ 12 tháng;
- d) Cơ quan, tổ chức đánh giá, chứng nhận chất lượng chịu trách nhiệm trước pháp luật về kết quả đánh giá của mình.

3. Hằng năm, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm tự đánh giá chất lượng theo quy định tại điểm a khoản 1 Điều 57 của Luật này.

4. Tổ chức đánh giá, chứng nhận chất lượng cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đã được cấp giấy chứng nhận đăng ký hoạt động đánh giá sự phù hợp theo quy định của pháp luật thực hiện đánh giá chất lượng khi có đề nghị của cơ quan quản lý nhà nước về khám bệnh, chữa bệnh hoặc của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

5. Kết quả đánh giá chất lượng được công khai tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh và Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh.

6. Căn cứ kết quả đánh giá quy định tại khoản 3 và khoản 4 Điều này, cơ quan quản lý nhà nước về khám bệnh, chữa bệnh thực hiện kiểm tra kết quả đánh giá chất lượng đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc thẩm quyền quản lý theo nguyên tắc quản lý rủi ro.

7. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Mục 3** **QUYỀN VÀ TRÁCH NHIỆM** **CỦA CƠ SỞ KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH**

#### **Điều 59. Quyền của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Thực hiện các hoạt động khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của Luật này.
2. Được từ chối khám bệnh, chữa bệnh trong các trường hợp sau đây:
  - a) Vượt quá khả năng chuyên môn hoặc không thuộc phạm vi hoạt động chuyên môn của cơ sở, trừ trường hợp cấp cứu quy định tại Điều 61 của Luật này.
  - b) Thuộc một trong các trường hợp quy định tại các khoản 3, 4 và 5 Điều 40 của Luật này.
3. Thu các khoản chi phí liên quan đến hoạt động khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của pháp luật.
4. Hưởng chế độ ưu đãi khi thực hiện các hoạt động khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của pháp luật.
5. Giao kết hợp đồng khám bệnh, chữa bệnh bảo hiểm y tế với cơ quan bảo hiểm xã hội theo quy định của pháp luật về bảo hiểm y tế; giao kết hợp đồng với các tổ chức bảo hiểm khác theo quy định của pháp luật về kinh doanh bảo hiểm để khám bệnh, chữa bệnh.
6. Hợp tác với các tổ chức, cá nhân trong nước và nước ngoài trong hoạt động khám bệnh, chữa bệnh.



7. Được tổ chức cung cấp các dịch vụ chăm sóc, hỗ trợ theo yêu cầu của người bệnh, người đại diện của người bệnh.

8. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tư nhân được tham gia đấu thầu hoặc được Nhà nước đặt hàng cung cấp một số dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh trong danh mục dịch vụ sự nghiệp công do ngân sách nhà nước bảo đảm hoặc hỗ trợ một phần kinh phí.

#### **Điều 60. Trách nhiệm của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Tổ chức việc sơ cứu, cấp cứu, khám bệnh, chữa bệnh kịp thời cho người bệnh.

2. Thực hiện quy định về chuyên môn kỹ thuật và các quy định khác của pháp luật có liên quan; chịu trách nhiệm về kết quả khám bệnh, chữa bệnh của người hành nghề thuộc thẩm quyền quản lý.

3. Công khai thời gian làm việc và danh sách người hành nghề, thời gian làm việc của từng người hành nghề tại cơ sở.

4. Niêm yết giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh, giá dịch vụ chăm sóc, hỗ trợ theo yêu cầu tại cơ sở và trên Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh.

5. Bảo đảm việc thực hiện các quyền và nghĩa vụ của người bệnh, người hành nghề theo quy định của Luật này.

6. Bảo đảm các điều kiện cần thiết để người hành nghề thực hiện khám bệnh, chữa bệnh.

7. Tự đánh giá chất lượng và công khai kết quả đánh giá chất lượng theo quy định tại khoản 3 và khoản 5 Điều 58 của Luật này.

8. Chấp hành quyết định huy động, điều động của cơ quan, người có thẩm quyền trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp.

9. Tổ chức lực lượng bảo vệ, bảo đảm các điều kiện về cơ sở vật chất để bảo đảm an ninh, trật tự phù hợp với hình thức tổ chức, quy mô của cơ sở; phối hợp với cơ quan công an có thẩm quyền trong việc tổ chức triển khai thực hiện các biện pháp bảo đảm an ninh, trật tự tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh; thông báo cơ quan công an có thẩm quyền trên địa bàn để phối hợp triển khai các biện pháp bảo vệ người bệnh là người bị bạo lực, xâm hại.

10. Giới thiệu, chuyển người bệnh đến cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khác phù hợp tình trạng bệnh và yêu cầu của người bệnh trong các trường hợp sau đây:

a) Tình trạng bệnh vượt quá khả năng chuyên môn hoặc không thuộc phạm vi hoạt động chuyên môn của cơ sở;

b) Theo yêu cầu của người bệnh, người đại diện của người bệnh và được sự đồng ý của người hành nghề trực tiếp điều trị cho người bệnh hoặc người trực lâm sàng;

c) Tạm dừng hoặc bị đình chỉ hoạt động, thu hồi giấy phép hoạt động;

d) Gặp sự cố bất khả kháng mà không thể tiếp tục thực hiện việc tiếp nhận, điều trị cho người bệnh.

11. Tham gia các hoạt động y tế dự phòng theo quy định của pháp luật.

12. Mua bảo hiểm trách nhiệm nghề nghiệp trong hoạt động khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của Chính phủ.

## **Chương V**

### **CHUYÊN MÔN KỸ THUẬT**

#### **Điều 61. Cấp cứu**

1. Hoạt động cấp cứu bao gồm:

a) Cấp cứu tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

b) Cấp cứu ngoại viện.

2. Việc cấp cứu phải được thực hiện trên cơ sở đánh giá, phân loại và áp dụng các biện pháp chuyên môn kỹ thuật phù hợp với tình trạng của người bệnh. Trong trường hợp cần áp dụng những biện pháp cấp cứu khẩn cấp mà chưa có sự đồng ý của người đại diện của người bệnh thì người chịu trách nhiệm chuyên môn của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hoặc người trực lãnh đạo của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có quyền quyết định.

3. Khi việc cấp cứu cần sự hỗ trợ chuyên môn kỹ thuật thì tùy từng trường hợp cụ thể, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phải thực hiện một hoặc một số hoạt động sau đây:

a) Tổ chức hội chẩn theo quy định tại Điều 64 của Luật này;

b) Đề nghị cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khác hỗ trợ cấp cứu;

c) Hỗ trợ khám bệnh, chữa bệnh từ xa;

d) Chuyển người bệnh cấp cứu đến cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phù hợp.

4. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm ưu tiên điều kiện tốt nhất về nhân lực, thiết bị y tế, thuốc cho việc cấp cứu người bệnh và chuyển người bệnh cấp cứu đến cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phù hợp.

5. Hoạt động cấp cứu ngoại viện bao gồm:

a) Hoạt động sơ cứu do người có kiến thức hoặc đã qua đào tạo về cấp cứu ngoại viện thực hiện;

b) Hoạt động cấp cứu do cấp cứu viên ngoại viện hoặc người hành nghề thực hiện.

6. Hệ thống cấp cứu ngoại viện được tổ chức dựa trên các tiêu chí cơ bản sau đây:

- a) Phù hợp với quy mô dân số;
- b) Phù hợp với đặc điểm địa lý của từng địa bàn;
- c) Bảo đảm khả năng tiếp nhận và vận chuyển người bệnh đến cơ sở khám bệnh, chữa bệnh trong khoảng thời gian ngắn nhất.

7. Kinh phí cho hoạt động cấp cứu ngoại viện bao gồm:

a) Ngân sách nhà nước bảo đảm kinh phí cho đầu tư thiết lập hệ thống cơ sở cấp cứu ngoại viện của Nhà nước; hệ thống tiếp nhận thông tin và điều phối cấp cứu; chi phí vận chuyển và sử dụng dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh trong quá trình vận chuyển cấp cứu đối với trường hợp tai nạn, thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm đặc biệt nguy hiểm có khả năng lây truyền rất nhanh, phát tán rộng và tỷ lệ tử vong cao hoặc chưa rõ tác nhân gây bệnh; chi phí quản lý, vận hành cơ sở cấp cứu ngoại viện của Nhà nước;

b) Người sử dụng dịch vụ cấp cứu ngoại viện chi trả chi phí sử dụng dịch vụ theo quy định tại Điều 18 và Điều 110 của Luật này, trừ trường hợp quy định tại điểm a khoản này.

8. Ủy ban nhân dân cấp tỉnh có trách nhiệm tổ chức hệ thống cấp cứu ngoại viện của Nhà nước trên địa bàn quản lý.

9. Chính phủ quy định chi tiết việc bảo đảm kinh phí cho hoạt động cấp cứu quy định tại điểm a khoản 7 Điều này.

## **Điều 62. Khám bệnh, chỉ định phương pháp chữa bệnh và kê đơn thuốc**

1. Việc khám bệnh, chỉ định phương pháp chữa bệnh và kê đơn thuốc phải tuân thủ quy định về chuyên môn kỹ thuật do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành hoặc công nhận.

2. Người hành nghề được giao nhiệm vụ khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm sau đây:

a) Khám bệnh, chỉ định phương pháp chữa bệnh và kê đơn thuốc kịp thời, chính xác và chịu trách nhiệm về quyết định của mình;

b) Căn cứ vào tình trạng bệnh của người bệnh, áp dụng điều trị ngoại trú, điều trị ban ngày hoặc điều trị nội trú. Trường hợp người bệnh phải điều trị nội trú mà cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không có giường điều trị nội trú thì phải giới thiệu người bệnh đến cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phù hợp.

### **Điều 63. Sử dụng thuốc trong điều trị**

1. Việc sử dụng thuốc trong khám bệnh, chữa bệnh phải bảo đảm các nguyên tắc sau đây:

- a) Chỉ định sử dụng thuốc khi thật sự cần thiết, đúng mục đích, an toàn, hợp lý và hiệu quả;
- b) Việc kê đơn thuốc phải phù hợp với chẩn đoán bệnh, tình trạng bệnh của người bệnh;
- c) Bảo quản, cấp phát và sử dụng thuốc đúng quy định.

2. Khi kê đơn thuốc, người hành nghề phải ghi đầy đủ, rõ ràng vào đơn thuốc hoặc hồ sơ bệnh án thông tin về tên thuốc, hàm lượng, liều dùng, cách dùng và thời gian dùng thuốc; không kê đơn thực phẩm chức năng trong đơn thuốc.

3. Khi cấp phát thuốc cho người bệnh, người hành nghề được giao nhiệm vụ cấp phát thuốc có trách nhiệm sau đây:

- a) Kiểm tra đơn thuốc, phiếu lĩnh thuốc, tên thuốc, nồng độ, hàm lượng, liều dùng, cách dùng thuốc;
- b) Kiểm tra, đối chiếu đơn thuốc với các thông tin về tên thuốc, nồng độ, hàm lượng, hạn dùng và số lượng khi nhận thuốc;
- c) Kiểm tra, đối chiếu họ tên người bệnh, tên thuốc, dạng thuốc, nồng độ, hàm lượng, liều dùng, cách dùng, thời gian dùng trước khi cấp phát thuốc cho người bệnh;
- d) Đối với người bệnh điều trị nội trú, phải ghi chép đầy đủ thời gian cấp phát thuốc cho người bệnh, theo dõi, phát hiện kịp thời các tai biến và báo cho người hành nghề trực tiếp điều trị.

4. Người bệnh có trách nhiệm dùng thuốc theo đúng hướng dẫn của người hành nghề. Người bệnh hoặc người đại diện của người bệnh kịp thời thông báo cho người hành nghề hoặc cơ sở khám bệnh, chữa bệnh về các dấu hiệu bất thường sau khi người bệnh dùng thuốc.

### **Điều 64. Hội chẩn**

1. Việc hội chẩn được thực hiện khi bệnh vượt quá khả năng chẩn đoán và điều trị của người hành nghề hoặc cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hoặc đã điều trị nhưng bệnh không có tiến triển tốt hoặc có diễn biến xấu đi. Kết quả hội chẩn phải được thể hiện bằng văn bản và được lưu trữ trong hồ sơ bệnh án.

2. Các hình thức hội chẩn bao gồm:

- a) Hội chẩn khoa, liên khoa và toàn cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

b) Hội chẩn giữa các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh trong nước; giữa các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh trong nước và nước ngoài;

c) Hội chẩn khác.

3. Các phương thức hội chẩn bao gồm:

a) Hội chẩn trực tiếp;

b) Hội chẩn từ xa.

4. Trên cơ sở kết quả hội chẩn, người hành nghề trực tiếp khám bệnh, chữa bệnh đưa ra quyết định chẩn đoán, điều trị phù hợp cho người bệnh.

#### **Điều 65. Thực hiện phẫu thuật, can thiệp có xâm nhập cơ thể**

1. Việc phẫu thuật hoặc can thiệp có xâm nhập cơ thể đối với người bệnh chỉ được thực hiện sau khi có sự đồng ý của người bệnh hoặc người đại diện của người bệnh quy định tại các điểm a, b, c và d khoản 2 Điều 8 của Luật này.

2. Việc phẫu thuật hoặc can thiệp có xâm nhập cơ thể đối với người bệnh là người bị mất năng lực hành vi dân sự, có khó khăn trong nhận thức, làm chủ hành vi, hạn chế năng lực hành vi dân sự hoặc người chưa thành niên hoặc người bệnh không có thân nhân được thực hiện theo quy định tại Điều 15 của Luật này.

#### **Điều 66. Chăm sóc người bệnh**

1. Chăm sóc người bệnh là việc thực hiện các kỹ thuật can thiệp chuyên môn, hỗ trợ để chăm sóc người bệnh trong quá trình khám bệnh, chữa bệnh theo chỉ định của người hành nghề.

2. Nội dung chăm sóc người bệnh bao gồm:

a) Xác định nhu cầu chăm sóc, chẩn đoán điều dưỡng, chỉ định can thiệp chăm sóc người bệnh;

b) Phân cấp cấp độ chăm sóc người bệnh;

c) Thực hiện các kỹ thuật can thiệp chuyên môn, hỗ trợ để chăm sóc người bệnh, hướng dẫn người bệnh hoặc thân nhân của người bệnh thực hiện một số hoạt động chăm sóc;

d) Theo dõi tình trạng của người bệnh, đánh giá kết quả thực hiện can thiệp chăm sóc.

#### **Điều 67. Dinh dưỡng trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Dinh dưỡng trong khám bệnh, chữa bệnh là hoạt động dinh dưỡng lâm sàng và việc tư vấn, hướng dẫn chế độ dinh dưỡng trong khám bệnh, chữa bệnh.

2. Nội dung hoạt động dinh dưỡng trong khám bệnh, chữa bệnh bao gồm:

a) Khám, đánh giá, phân loại mức độ suy dinh dưỡng, tư vấn, hướng dẫn chuyên môn về dinh dưỡng bệnh lý và theo dõi tình trạng dinh dưỡng của người bệnh;

b) Giáo dục, truyền thông về dinh dưỡng.

### **Điều 68. Phục hồi chức năng**

1. Nguyên tắc thực hiện các hoạt động phục hồi chức năng bao gồm:

- a) Phòng ngừa và giảm ảnh hưởng của khuyết tật; khám phát hiện để can thiệp phục hồi chức năng sớm;
- b) Đánh giá nhu cầu sử dụng các biện pháp can thiệp phục hồi chức năng trong quá trình khám, điều trị cho người bệnh;
- c) Các biện pháp can thiệp phải được thực hiện liên tục, toàn diện theo các giai đoạn tiến triển của bệnh tật;
- d) Phối hợp giữa chuyên khoa phục hồi chức năng với các chuyên khoa khác; giữa cơ sở khám bệnh, chữa bệnh với cá nhân, gia đình, cộng đồng và cơ quan, tổ chức khác; thực hiện phục hồi chức năng dựa vào cộng đồng.

2. Hoạt động phục hồi chức năng bao gồm:

- a) Khám, chẩn đoán, xác định nhu cầu phục hồi chức năng của người bệnh;
- b) Sử dụng kỹ thuật vận động trị liệu, vật lý trị liệu, hoạt động trị liệu, ngôn ngữ trị liệu, tâm lý trị liệu, chỉnh hình, thiết bị y tế, dụng cụ phục hồi chức năng và các biện pháp can thiệp khác;
- c) Tư vấn cho người bệnh và gia đình người bệnh về phục hồi chức năng, tâm lý, giáo dục, hướng nghiệp và hòa nhập cộng đồng;
- d) Điều chỉnh, cải thiện điều kiện tiếp cận môi trường sống phù hợp với tình trạng sức khỏe;
- đ) Tuyên truyền phòng ngừa khuyết tật, bệnh tật.

### **Điều 69. Hồ sơ bệnh án**

1. Người bệnh điều trị nội trú, điều trị ban ngày và điều trị ngoại trú trong các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phải được lập, cập nhật hồ sơ bệnh án.

Hồ sơ bệnh án được lập bằng giấy hoặc bản điện tử có giá trị pháp lý như nhau. Mẫu hồ sơ bệnh án và mẫu bản tóm tắt hồ sơ bệnh án do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành.

2. Hồ sơ bệnh án phải được lưu giữ và giữ bí mật theo quy định của pháp luật; trường hợp hồ sơ bệnh án thuộc phạm vi bí mật nhà nước thì thực hiện theo quy định của pháp luật về bảo vệ bí mật nhà nước. Việc lưu trữ hồ sơ bệnh án được thực hiện theo quy định của pháp luật về lưu trữ.

3. Việc khai thác hồ sơ bệnh án đang trong quá trình điều trị được thực hiện như sau:

- a) Học sinh, sinh viên, học viên, nghiên cứu viên của các cơ sở nghiên cứu, cơ sở đào tạo, người hành nghề, người trực tiếp tham gia điều trị người bệnh trong cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được đọc nhưng chỉ được sao chép khi có sự đồng ý của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

b) Người hành nghề của cơ sở khác được đọc, sao chép khi có sự đồng ý của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

4. Việc khai thác hồ sơ bệnh án đã hoàn thành quá trình điều trị và được chuyển lưu trữ được thực hiện như sau:

a) Đại diện cơ quan quản lý nhà nước về y tế, cơ quan điều tra, viện kiểm sát, tòa án, thanh tra chuyên ngành y tế, tổ chức giám định pháp y, pháp y tâm thần, luật sư của người bệnh được tiếp cận, cung cấp hồ sơ bệnh án để thực hiện nhiệm vụ theo quy định của pháp luật có liên quan;

b) Học sinh, sinh viên, học viên, nghiên cứu viên của các cơ sở nghiên cứu, cơ sở đào tạo, người hành nghề trong cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được mượn hồ sơ bệnh án tại chỗ để đọc hoặc sao chép phục vụ cho việc nghiên cứu hoặc công tác chuyên môn kỹ thuật khi có sự đồng ý của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

c) Đại diện cơ quan bảo hiểm xã hội, cơ quan giải quyết bồi thường nhà nước được mượn hồ sơ bệnh án tại chỗ để đọc, ghi chép hoặc đề nghị cấp bản sao phục vụ nhiệm vụ được giao khi có sự đồng ý của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

d) Người bệnh hoặc người đại diện của người bệnh quy định tại điểm c và điểm d khoản 2 Điều 8 của Luật này được đọc, xem, sao chụp, ghi chép hồ sơ bệnh án và được cung cấp bản tóm tắt hồ sơ bệnh án khi có yêu cầu bằng văn bản;

đ) Người đại diện của người bệnh quy định tại điểm a và điểm d khoản 2 Điều 8 của Luật này được cung cấp bản tóm tắt hồ sơ bệnh án khi có yêu cầu bằng văn bản.

5. Các đối tượng quy định tại khoản 3 và khoản 4 Điều này khi sử dụng thông tin trong hồ sơ bệnh án phải giữ bí mật và chỉ được sử dụng đúng mục đích như đã đề nghị với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

#### **Điều 70. Trục khám bệnh, chữa bệnh**

1. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có giường bệnh nội trú, có giường lưu để theo dõi, điều trị người bệnh và cơ sở cấp cứu ngoại viện phải tổ chức trục khám bệnh, chữa bệnh liên tục theo thời gian hoạt động được ghi trong giấy phép hoạt động, kể cả ngày lễ, tết, ngày nghỉ, để kịp thời cấp cứu và duy trì các hoạt động khám bệnh, chữa bệnh khác.

2. Trục khám bệnh, chữa bệnh bao gồm các thành phần sau đây:

- a) Trục lãnh đạo;
- b) Trục lâm sàng;
- c) Trục cận lâm sàng;
- d) Trục hậu cần, quản trị.

3. Trục khám bệnh, chữa bệnh ở bệnh viện phải bảo đảm đầy đủ thành phần theo quy định tại khoản 2 Điều này; trục khám bệnh, chữa bệnh ở cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quy định tại khoản 1 Điều này mà không phải là bệnh viện thì thực hiện theo quy định của Bộ trưởng Bộ Y tế.

4. Người đứng đầu cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quy định tại khoản 1 Điều này có trách nhiệm sau đây:

- a) Phân công người trực;
- b) Bảo đảm đầy đủ các phương tiện vận chuyển cấp cứu phù hợp với hình thức tổ chức khám bệnh, chữa bệnh; thiết bị y tế và thuốc thiết yếu sử dụng trong các trường hợp cấp cứu;
- c) Bảo đảm chế độ báo cáo đối với mỗi phiên trực.

#### **Điều 71. Phòng ngừa sự cố y khoa tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Việc phòng ngừa sự cố y khoa được thực hiện trên cơ sở nhận diện, báo cáo, phân tích tìm nguyên nhân, đưa ra các khuyến cáo, giải pháp phòng ngừa, tránh tái diễn sự cố y khoa để nâng cao chất lượng dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh, an toàn cho người bệnh.

Các khuyến cáo, giải pháp phòng ngừa sự cố y khoa được công bố công khai trên Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh.

2. Việc phòng ngừa sự cố y khoa tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh là trách nhiệm của người đứng đầu cơ sở và người làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

#### **Điều 72. Tiếp nhận và xử lý đối với người bệnh không có thân nhân**

1. Khi tiếp nhận, thực hiện khám bệnh, chữa bệnh cho người bệnh không có thân nhân, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm kiểm kê, lập biên bản và lưu giữ tài sản của người bệnh.

2. Trong thời gian 48 giờ kể từ khi tiếp nhận người bệnh mà vẫn không thể xác định được thân nhân của người bệnh thì cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm sau đây:

- a) Thông báo cho Ủy ban nhân dân cấp xã nơi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đặt trụ sở để báo tìm thân nhân của người bệnh trên các phương tiện thông tin đại chúng;
- b) Lập hồ sơ đề nghị tiếp nhận đối tượng bảo trợ xã hội có hoàn cảnh đặc biệt khó khăn vào cơ sở trợ giúp xã hội theo quy định của pháp luật về bảo trợ xã hội đối với trẻ em dưới 06 tháng tuổi bị bỏ rơi tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.



3. Trường hợp người bệnh đã được điều trị ổn định mà vẫn không thể xác định được thân nhân và thuộc trường hợp bị mất năng lực hành vi dân sự, có khó khăn trong nhận thức, làm chủ hành vi, hạn chế năng lực hành vi dân sự, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm lập hồ sơ đề nghị tiếp nhận đối tượng bảo trợ xã hội có hoàn cảnh đặc biệt khó khăn vào cơ sở trợ giúp xã hội theo quy định của pháp luật về bảo trợ xã hội.

4. Trường hợp người bệnh tử vong, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm giải quyết theo quy định tại Điều 73 của Luật này.

5. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm nuôi dưỡng, chăm sóc, khám bệnh, chữa bệnh cho người bệnh trong thời gian từ khi tiếp nhận đến khi hoàn thành thủ tục chuyển người bệnh đến cơ sở trợ giúp xã hội hoặc đến khi người bệnh tử vong.

6. Chính phủ quy định việc chi trả chi phí nuôi dưỡng, chăm sóc, khám bệnh, chữa bệnh cho các đối tượng quy định tại Điều này và việc xử lý đối với người bệnh không có thân nhân là người nước ngoài.

### **Điều 73. Xử lý trường hợp tử vong**

1. Việc xử lý trường hợp người được đưa đến cơ sở khám bệnh, chữa bệnh nhưng đã tử vong trước khi đến cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được thực hiện như sau:

a) Trường hợp có giấy tờ tùy thân và liên hệ được với thân nhân thì cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thông báo cho thân nhân của người đó để tiếp nhận thi thể;

b) Trường hợp không có giấy tờ tùy thân hoặc có giấy tờ tùy thân nhưng không thể liên hệ với thân nhân thì cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thông báo cho Ủy ban nhân dân cấp xã nơi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đặt trụ sở trong vòng 24 giờ kể từ khi tiếp nhận thi thể.

Ủy ban nhân dân cấp xã nơi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đặt trụ sở có trách nhiệm tiếp nhận thi thể và tổ chức mai táng trong thời gian chậm nhất là 48 giờ kể từ khi nhận được thông báo.

2. Việc xử lý trường hợp tử vong tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được thực hiện như sau:

a) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm cấp giấy báo tử; tiến hành kiểm thảo tử vong; hoàn thiện, lưu trữ hồ sơ bệnh án của người bệnh tử vong; lấy và lưu trữ mẫu của thi thể để phục vụ việc xác định nhân thân người bệnh đối với trường hợp quy định tại điểm b khoản 1 Điều này; thông báo cho thân nhân của người bệnh để tổ chức mai táng;

b) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm thông báo cho Ủy ban nhân dân cấp xã nơi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đặt trụ sở trong vòng 24 giờ kể từ khi người bệnh tử vong đối với trường hợp người bệnh tử vong mà không có người nhận hoặc từ chối tiếp nhận.

Ủy ban nhân dân cấp xã nơi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đặt trụ sở có trách nhiệm tiếp nhận thi thể và tổ chức mai táng trong thời gian chậm nhất là 48 giờ kể từ khi nhận được thông báo của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quy định tại điểm b khoản này.

3. Chính phủ quy định việc xử lý trường hợp người nước ngoài tử vong mà không có thân nhân và việc chi trả chi phí mai táng đối với các trường hợp quy định tại điểm b khoản 1 và điểm b khoản 2 Điều này.

#### **Điều 74. Kiểm soát nhiễm khuẩn tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Kiểm soát nhiễm khuẩn tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh bao gồm các biện pháp sau đây:

a) Giám sát nhiễm khuẩn cơ sở khám bệnh, chữa bệnh và các bệnh có nguy cơ gây dịch;

b) Giám sát tuân thủ thực hành kiểm soát nhiễm khuẩn;

c) Phòng ngừa chuẩn, phòng ngừa dựa theo đường lây truyền;

d) Kiểm soát nhiễm khuẩn đối với dụng cụ, thiết bị y tế;

đ) Vệ sinh tay;

e) Vệ sinh môi trường;

g) Phòng ngừa và xử trí lây nhiễm liên quan đến vi sinh vật;

h) An toàn thực phẩm;

i) Các biện pháp kiểm soát nhiễm khuẩn khác.

2. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm sau đây:

a) Thực hiện các biện pháp kiểm soát nhiễm khuẩn tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quy định tại khoản 1 Điều này;

b) Bảo đảm cơ sở vật chất, thiết bị, trang phục phòng hộ, điều kiện vệ sinh cá nhân cho người làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, người bệnh và người khác đến cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phù hợp với yêu cầu về kiểm soát nhiễm khuẩn tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

c) Tư vấn về các biện pháp kiểm soát nhiễm khuẩn cho người bệnh và thân nhân của người bệnh;

d) Tổ chức hệ thống kiểm soát nhiễm khuẩn tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

### **Điều 75. Quản lý chất thải y tế và bảo vệ môi trường trong cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm thực hiện quản lý chất thải y tế, bảo vệ môi trường trong cơ sở khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của pháp luật về bảo vệ môi trường.

### **Điều 76. Điều trị ngoại trú**

Điều trị ngoại trú được áp dụng đối với các trường hợp không phải điều trị nội trú tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

### **Điều 77. Điều trị nội trú**

1. Điều trị nội trú được áp dụng đối với trường hợp người bệnh phải lưu lại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh để thực hiện việc khám bệnh, chữa bệnh theo chỉ định của người hành nghề.

2. Tùy theo chuyên khoa và điều kiện hoạt động, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được tổ chức điều trị nội trú. Phòng khám đa khoa tư nhân tại vùng có điều kiện kinh tế - xã hội khó khăn, vùng có điều kiện kinh tế - xã hội đặc biệt khó khăn, khu vực biên giới, hải đảo, phòng khám đa khoa khu vực của Nhà nước, nhà hộ sinh và trạm y tế xã được bố trí giường lưu để theo dõi và điều trị cho người bệnh nhưng tối đa không quá 72 giờ, trừ trường hợp bất khả kháng do thiên tai, thảm họa, dịch bệnh.

3. Việc chuyển khoa được thực hiện như sau:

a) Trong trường hợp phát hiện việc khám bệnh, chữa bệnh của người bệnh tại chuyên khoa khác phù hợp hơn với tình trạng bệnh của người bệnh;

b) Khoa chuyển người bệnh đi phải hoàn chỉnh hồ sơ bệnh án, chuyển người bệnh và hồ sơ bệnh án đến khoa mới.

4. Trường hợp chuyển cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thì cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chuyển người bệnh đi phải hoàn chỉnh hồ sơ bệnh án, giới thiệu người bệnh đến cơ sở khám bệnh, chữa bệnh mới.

Trường hợp chuyển cơ sở khám bệnh, chữa bệnh theo yêu cầu của người bệnh hoặc người đại diện của người bệnh đối với trường hợp người bệnh quy định tại Điều 15 của Luật này, người bệnh hoặc người đại diện của người bệnh phải cam kết tự chịu trách nhiệm bằng văn bản về việc chuyển cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

5. Người bệnh được ra khỏi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khi thuộc một trong các trường hợp sau đây:

a) Khi người bệnh đã khỏi bệnh hoặc tình trạng bệnh ổn định;

b) Có yêu cầu được ra khỏi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh và có cam kết của người bệnh hoặc người đại diện của người bệnh đối với trường hợp người bệnh bị mất năng lực hành vi dân sự, có khó khăn trong nhận thức, làm chủ hành vi, hạn chế năng lực hành vi dân sự, người bệnh là người chưa thành niên.

6. Khi người bệnh ra khỏi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm sau đây:

- a) Hoàn chỉnh hồ sơ bệnh án;
- b) Hướng dẫn người bệnh về việc tự chăm sóc sức khỏe;
- c) Chỉ định điều trị ngoại trú trong trường hợp cần thiết;
- d) Quyết toán chi phí khám bệnh, chữa bệnh;
- đ) Cung cấp giấy ra viện cho người bệnh.

#### **Điều 78. Điều trị ban ngày**

1. Điều trị ban ngày áp dụng đối với trường hợp người bệnh phải điều trị nội trú mà theo chỉ định của người hành nghề thì người bệnh không phải lưu lại qua đêm tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

2. Việc điều trị ban ngày được thực hiện theo quy định tại Điều 77 của Luật này.

#### **Điều 79. Hoạt động khám bệnh, chữa bệnh lưu động**

1. Các hoạt động khám bệnh, chữa bệnh lưu động bao gồm:

- a) Hoạt động khám bệnh, chữa bệnh lưu động do cơ sở khám bệnh, chữa bệnh cung cấp ngoài địa điểm khám bệnh, chữa bệnh ghi trong giấy phép hoạt động;
- b) Khám bệnh, chữa bệnh tại nhà, khám sức khỏe tại cơ quan, tổ chức, đơn vị;
- c) Khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo theo đợt.

2. Điều kiện thực hiện hoạt động khám bệnh, chữa bệnh lưu động được quy định như sau:

a) Đối với trường hợp quy định tại điểm a và điểm b khoản 1 Điều này phải được cung cấp bởi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có đủ người hành nghề, thiết bị y tế, cơ sở vật chất và các điều kiện khác phù hợp với quy mô và phạm vi cung cấp dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh lưu động, trừ các hoạt động khám bệnh, chữa bệnh tại nhà do nhân viên y tế thôn, bản, cô đỡ thôn, bản thực hiện;

b) Đối với trường hợp quy định tại điểm c khoản 1 Điều này phải đáp ứng các điều kiện quy định tại khoản 2 Điều 88 của Luật này;

c) Được sự đồng ý của cơ quan chuyên môn về y tế thuộc Ủy ban nhân dân cấp tỉnh nơi dự kiến tổ chức hoạt động khám bệnh, chữa bệnh lưu động đối với trường hợp quy định tại điểm a và điểm c khoản 1 Điều này, trừ trường hợp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc lực lượng vũ trang tổ chức khám bệnh, chữa bệnh lưu động cho đối tượng thuộc thẩm quyền quản lý.

3. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Điều 80. Khám bệnh, chữa bệnh từ xa và hỗ trợ khám bệnh, chữa bệnh từ xa**

1. Khám bệnh, chữa bệnh từ xa giữa người hành nghề với người bệnh được thực hiện như sau:

a) Khám bệnh, chữa bệnh từ xa giữa người hành nghề với người bệnh phải thực hiện theo phạm vi hành nghề của người hành nghề; việc chữa bệnh từ xa phải theo danh mục bệnh, tình trạng bệnh do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành;

b) Người hành nghề phải chịu trách nhiệm về kết quả chẩn đoán bệnh, chỉ định phương pháp chữa bệnh và kê đơn thuốc của mình.

2. Hỗ trợ khám bệnh, chữa bệnh từ xa giữa các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được thực hiện như sau:

a) Người hành nghề trực tiếp khám bệnh, chữa bệnh tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được hỗ trợ phải chịu trách nhiệm về kết quả khám bệnh, chữa bệnh của mình;

b) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được hỗ trợ phải chi trả chi phí hỗ trợ khám bệnh, chữa bệnh từ xa cho cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hỗ trợ theo mức thỏa thuận giữa các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

3. Chính phủ quy định chi tiết về khám bệnh, chữa bệnh từ xa và hỗ trợ khám bệnh, chữa bệnh từ xa.

### **Điều 81. Khám bệnh, chữa bệnh y học gia đình**

1. Hoạt động khám bệnh, chữa bệnh y học gia đình do cơ sở khám bệnh, chữa bệnh y học gia đình hoặc cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khác có phạm vi hoạt động chuyên môn về y học gia đình thực hiện.

2. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quy định tại khoản 1 Điều này thực hiện các nhiệm vụ sau đây:

a) Quản lý, chăm sóc sức khỏe ban đầu trên địa bàn hoạt động;

b) Tư vấn, dự phòng bệnh, tật và nâng cao sức khỏe;

c) Cấp cứu, khám bệnh, chữa bệnh ban đầu;

d) Cung cấp dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh, phục hồi chức năng, chăm sóc giảm nhẹ, chăm sóc cuối đời tại nhà;

đ) Quyết định việc chuyển người bệnh thuộc đối tượng quản lý đến cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khác; tiếp nhận, quản lý sức khỏe người bệnh do cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chuyển đến;

e) Thực hiện nhiệm vụ khác do cơ quan có thẩm quyền giao.

## **Điều 82. Bắt buộc chữa bệnh**

1. Các trường hợp bắt buộc chữa bệnh theo quy định của Luật này bao gồm:

a) Người mắc bệnh truyền nhiễm nhóm A theo quy định của pháp luật về phòng, chống bệnh truyền nhiễm;

b) Người mắc bệnh trầm cảm có ý tưởng, hành vi tự sát; người mắc bệnh tâm thần ở trạng thái kích động có khả năng gây nguy hại cho bản thân hoặc có hành vi gây nguy hại cho người khác hoặc phá hoại tài sản;

c) Trường hợp khác theo quy định của pháp luật.

2. Chính phủ quy định về biện pháp bắt buộc chữa bệnh đối với trường hợp quy định tại khoản 1 Điều này.

## **Điều 83. Khám sức khỏe**

1. Các hình thức khám sức khỏe bao gồm:

a) Khám sức khỏe định kỳ;

b) Khám sức khỏe để phân loại sức khỏe để đi học, đi làm việc;

c) Khám sức khỏe cho học sinh, sinh viên;

d) Khám sức khỏe theo yêu cầu nghề nghiệp, công việc đặc thù;

đ) Khám phát hiện bệnh nghề nghiệp;

e) Khám sức khỏe theo yêu cầu;

g) Hình thức khám sức khỏe khác.

2. Bộ trưởng Bộ Y tế quy định tiêu chuẩn và việc khám sức khỏe quy định tại khoản 1 Điều này, trừ trường hợp quy định tại khoản 3 Điều này.

3. Bộ trưởng Bộ Quốc phòng, Bộ trưởng Bộ Công an quy định tiêu chuẩn sức khỏe đặc thù và việc khám sức khỏe cho đối tượng thuộc thẩm quyền quản lý.

## **Điều 84. Giám định y khoa**

1. Giám định y khoa bao gồm giám định lần đầu, giám định lại, giám định phúc quyết và giám định lần cuối.

2. Kết luận giám định phải theo đúng nội dung mà cơ quan, tổ chức, cá nhân trưng cầu hoặc yêu cầu giám định. Cơ quan, người kết luận giám định phải chịu trách nhiệm trước pháp luật về kết luận đó.

## Chương VI

# KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH BẰNG Y HỌC CỔ TRUYỀN VÀ KẾT HỢP Y HỌC CỔ TRUYỀN VỚI Y HỌC HIỆN ĐẠI

### **Điều 85. Phát triển khám bệnh, chữa bệnh bằng y học cổ truyền**

1. Các bệnh viện đa khoa của Nhà nước phải tổ chức việc khám bệnh, chữa bệnh bằng y học cổ truyền; khuyến khích cơ sở khám bệnh, chữa bệnh y học cổ truyền tổ chức khám bệnh, chữa bệnh đa khoa nếu đáp ứng đủ điều kiện.

2. Kế thừa và phát triển bài thuốc, phương pháp khám bệnh, chữa bệnh bằng y học cổ truyền; khuyến khích sử dụng thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền được sản xuất từ nguyên liệu nuôi trồng trong nước có hiệu quả trên lâm sàng trong phòng bệnh, chữa bệnh. Khuyến khích và hỗ trợ phát triển các phương pháp dưỡng sinh y học cổ truyền tại cộng đồng.

3. Khuyến khích thực hiện các hoạt động nghiên cứu khoa học và công nghệ về y học cổ truyền sau đây:

- a) Phát hiện, nghiên cứu về thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền;
- b) Nghiên cứu về tính vị và tác dụng theo y học cổ truyền của các vị thuốc nam, thuốc dân gian, bài thuốc được xác định theo y học cổ truyền và y học hiện đại có tác dụng trong phòng bệnh, chữa bệnh;
- c) Nghiên cứu về tính an toàn, hiệu quả của các phương thức chẩn trị và các phương pháp chữa bệnh không dùng thuốc của y học cổ truyền trong phòng bệnh, chữa bệnh;
- d) Nghiên cứu tuyển chọn, phát triển thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền an toàn, hiệu quả cao trong điều trị bệnh;
- đ) Nghiên cứu về an toàn, hiệu quả sử dụng thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền kết hợp với thuốc hóa dược theo giai đoạn bệnh;
- e) Nghiên cứu kết hợp y học cổ truyền với y học hiện đại trong chẩn đoán bệnh để xây dựng bộ tiêu chí chẩn đoán bệnh, thể bệnh theo y học cổ truyền;
- g) Nghiên cứu ứng dụng công nghệ tiên tiến để bào chế thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền dưới dạng bào chế hiện đại.

4. Khuyến khích đăng ký quyền sở hữu trí tuệ đối với bài thuốc gia truyền, phương pháp chữa bệnh gia truyền.

### **Điều 86. Phát triển nguồn lực phục vụ khám bệnh, chữa bệnh bằng y học cổ truyền**

1. Lồng ghép nội dung đào tạo về y học cổ truyền trong chương trình đào tạo của các cơ sở đào tạo thuộc khối ngành sức khỏe; đa dạng hình thức đào tạo, loại hình đào tạo nhân lực khám bệnh, chữa bệnh y học cổ truyền với nhiều trình độ khác nhau.

2. Lương y, người có bài thuốc gia truyền hoặc có phương pháp chữa bệnh gia truyền được tham gia các khóa đào tạo cập nhật, bồi dưỡng, nâng cao kiến thức về y học hiện đại và y học cổ truyền.

3. Khuyến khích người có bài thuốc gia truyền hoặc có phương pháp chữa bệnh gia truyền thực hiện việc đăng ký với cơ quan chuyên môn về y tế thuộc Ủy ban nhân dân cấp tỉnh nơi người đó hành nghề khi đào tạo cho người khác để kế thừa bài thuốc gia truyền, phương pháp chữa bệnh gia truyền.

4. Bộ trưởng Bộ Y tế quy định việc cấp giấy chứng nhận lương y, giấy chứng nhận người có bài thuốc gia truyền, giấy chứng nhận người có phương pháp chữa bệnh gia truyền.

**Điều 87. Kết hợp y học cổ truyền với y học hiện đại tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Việc kết hợp y học cổ truyền với y học hiện đại chỉ được thực hiện tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh và theo quy định sau đây:

a) Sử dụng phương pháp, kỹ thuật chuyên môn của y học cổ truyền kết hợp với phương pháp, kỹ thuật chuyên môn của y học hiện đại để khám bệnh, chữa bệnh và theo dõi, đánh giá kết quả điều trị;

b) Chỉ người hành nghề có đủ điều kiện mới được chỉ định phương pháp chữa bệnh, kê đơn thuốc kết hợp y học cổ truyền với y học hiện đại.

2. Bộ trưởng Bộ Y tế quy định chi tiết Điều này.

**Chương VII**

**KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH NHÂN ĐẠO, KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH KHÔNG VÌ MỤC ĐÍCH LỢI NHUẬN, CHUYỂN GIAO KỸ THUẬT CHUYÊN MÔN VỀ KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH**

**Mục 1**

**KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH NHÂN ĐẠO, KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH KHÔNG VÌ MỤC ĐÍCH LỢI NHUẬN**

**Điều 88. Hoạt động khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo và khám bệnh, chữa bệnh không vì mục đích lợi nhuận**

1. Tổ chức, cá nhân trong nước và nước ngoài có quyền đề nghị khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo và khám bệnh, chữa bệnh không vì mục đích lợi nhuận tại Việt Nam.



2. Điều kiện thực hiện khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo theo đợt quy định như sau:

a) Được thực hiện bởi người hành nghề hoặc người quy định tại khoản 3 Điều 19 của Luật này;

b) Được thực hiện bởi cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hoặc tổ chức được phép hoạt động tại Việt Nam;

c) Có nguồn tài chính cho việc tổ chức khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo và miễn phí toàn bộ chi phí khám bệnh, chữa bệnh cho người được khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo;

d) Được sự đồng ý của cơ quan có thẩm quyền theo quy định của Chính phủ.

3. Điều kiện cấp giấy phép hoạt động đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không vì mục đích lợi nhuận quy định như sau:

a) Đáp ứng các yêu cầu để cấp giấy phép hoạt động theo quy định của Luật này;

b) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo phải có nguồn tài chính cho việc tổ chức khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo và miễn phí toàn bộ chi phí khám bệnh, chữa bệnh cho người được khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo;

c) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hoạt động không vì mục đích lợi nhuận phải cam kết hoạt động không vì lợi nhuận, không rút vốn; phần thu nhập hằng năm thuộc sở hữu chung hợp nhất không phân chia được sử dụng để tiếp tục đầu tư phát triển cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đó. Việc cam kết phải được ghi nhận trong quyết định về thành lập hoặc chuyển đổi loại hình cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

4. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

**Điều 89. Ưu đãi đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không vì mục đích lợi nhuận**

1. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không vì mục đích lợi nhuận khi thành lập được hưởng chế độ ưu đãi theo quy định của pháp luật.

2. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không vì mục đích lợi nhuận thực hiện chế độ tài chính, kế toán, kiểm toán, thuế, định giá tài sản và công khai tài chính theo quy định của pháp luật, trong đó phần thu nhập không chia của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không vì mục đích lợi nhuận không phải nộp thuế.

**Mục 2****CHUYỂN GIAO KỸ THUẬT CHUYÊN MÔN  
VỀ KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH****Điều 90. Chuyển giao kỹ thuật chuyên môn về khám bệnh, chữa bệnh**

1. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được hợp tác chuyển giao kỹ thuật chuyên môn về khám bệnh, chữa bệnh tại Việt Nam với tổ chức, cá nhân trong nước và nước ngoài.

2. Việc đào tạo chuyển giao kỹ thuật chuyên môn về khám bệnh, chữa bệnh phải được thực hiện bởi người hành nghề, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh hợp pháp.

3. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

**Điều 91. Ưu đãi đối với hoạt động chuyển giao kỹ thuật chuyên môn về khám bệnh, chữa bệnh**

Hoạt động chuyển giao kỹ thuật chuyên môn về khám bệnh, chữa bệnh được hưởng chế độ ưu đãi theo quy định của pháp luật về chuyển giao công nghệ, sở hữu trí tuệ, khoa học và công nghệ.

**Chương VIII****ÁP DỤNG KỸ THUẬT MỚI, PHƯƠNG PHÁP MỚI  
TRONG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH VÀ THỬ NGHIỆM LÂM SÀNG  
TRONG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH****Mục 1****ÁP DỤNG KỸ THUẬT MỚI, PHƯƠNG PHÁP MỚI  
TRONG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH****Điều 92. Kỹ thuật mới, phương pháp mới trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Kỹ thuật mới, phương pháp mới là kỹ thuật, phương pháp lần đầu tiên áp dụng tại Việt Nam.

2. Kỹ thuật mới, phương pháp mới bao gồm:

a) Kỹ thuật mới, phương pháp mới được nghiên cứu tại Việt Nam hoặc nước ngoài;

b) Kỹ thuật mới, phương pháp mới được cơ quan có thẩm quyền ở nước ngoài cho phép áp dụng.

**Điều 93. Điều kiện áp dụng kỹ thuật mới, phương pháp mới trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đề nghị áp dụng kỹ thuật mới, phương pháp mới phải đáp ứng các điều kiện sau đây:

a) Có giấy phép hoạt động khám bệnh, chữa bệnh mà phạm vi hoạt động chuyên môn phù hợp với kỹ thuật mới, phương pháp mới được đề nghị áp dụng;

b) Có cơ sở vật chất, thiết bị y tế, nhân lực và điều kiện khác đáp ứng yêu cầu thực hiện kỹ thuật mới, phương pháp mới.

2. Việc áp dụng kỹ thuật mới, phương pháp mới được thực hiện như sau:

a) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh lập đề án đề nghị cho phép áp dụng thí điểm kỹ thuật mới, phương pháp mới;

b) Bộ Y tế thẩm định hoặc phân cấp thẩm định cho phép áp dụng thí điểm kỹ thuật mới, phương pháp mới;

c) Sau khi hoàn thành giai đoạn thí điểm, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tổng hợp kết quả thí điểm và đề nghị Bộ Y tế tổ chức nghiệm thu;

d) Trường hợp kết quả nghiệm thu đạt yêu cầu, Bộ Y tế có trách nhiệm ban hành văn bản cho phép áp dụng kỹ thuật mới, phương pháp mới.

3. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

## **Mục 2**

### **THỬ NGHIỆM LÂM SÀNG TRONG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH**

**Điều 94. Các trường hợp thử nghiệm lâm sàng trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Kỹ thuật mới, phương pháp mới trong khám bệnh, chữa bệnh.

2. Thiết bị y tế trước khi đăng ký lưu hành tại Việt Nam có mức độ rủi ro trung bình cao hoặc mức độ rủi ro cao theo quy định của Chính phủ.

**Điều 95. Điều kiện của người tham gia thử nghiệm lâm sàng trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Người đáp ứng yêu cầu chuyên môn của việc thử nghiệm lâm sàng kỹ thuật mới, phương pháp mới, thiết bị y tế trong khám bệnh, chữa bệnh (sau đây gọi là thử nghiệm lâm sàng) và tự nguyện tham gia thử nghiệm lâm sàng.

2. Trường hợp người tham gia thử nghiệm lâm sàng là người bị mất năng lực hành vi dân sự, có khó khăn trong nhận thức, làm chủ hành vi, hạn chế năng lực hành vi dân sự, người chưa thành niên thì phải được sự đồng ý của người đại diện hoặc người giám hộ theo quy định của pháp luật về dân sự.

3. Trường hợp người tham gia thử nghiệm lâm sàng là đối tượng quy định tại khoản 2 Điều này, phụ nữ đang mang thai hoặc đang cho con bú thì hồ sơ nghiên cứu phải ghi rõ lý do tuyển chọn và biện pháp phù hợp để bảo vệ người tham gia thử nghiệm lâm sàng, thai nhi hoặc trẻ em đang trong thời gian sử dụng sữa của người mẹ tham gia thử nghiệm lâm sàng.

### **Điều 96. Quyền và nghĩa vụ của người tham gia thử nghiệm lâm sàng**

1. Người tham gia thử nghiệm lâm sàng có quyền sau đây:

- a) Được cung cấp thông tin đầy đủ, trung thực về thử nghiệm lâm sàng và những rủi ro có thể xảy ra trước khi thử nghiệm lâm sàng;
- b) Được bồi thường thiệt hại (nếu có) do thử nghiệm lâm sàng gây ra;
- c) Được giữ bí mật về thông tin cá nhân có liên quan đến việc thử nghiệm lâm sàng;
- d) Không phải chịu trách nhiệm khi đơn phương chấm dứt việc tham gia thử nghiệm lâm sàng;
- đ) Khiếu nại, tố cáo, khởi kiện về hành vi vi phạm pháp luật của tổ chức, cá nhân có kỹ thuật mới, phương pháp mới, thiết bị y tế phải thử nghiệm lâm sàng.

2. Người tham gia thử nghiệm lâm sàng có nghĩa vụ tuân thủ hướng dẫn theo hồ sơ thử nghiệm lâm sàng đã được phê duyệt.

### **Điều 97. Quyền và trách nhiệm của tổ chức, cá nhân có kỹ thuật mới, phương pháp mới, thiết bị y tế phải thử nghiệm lâm sàng**

1. Tổ chức, cá nhân có kỹ thuật mới, phương pháp mới, thiết bị y tế phải thử nghiệm lâm sàng có quyền sau đây:

- a) Lựa chọn cơ sở đáp ứng yêu cầu về cơ sở vật chất và nhân lực để thử nghiệm lâm sàng;
- b) Sở hữu toàn bộ kết quả thử nghiệm lâm sàng.

2. Tổ chức, cá nhân có kỹ thuật mới, phương pháp mới, thiết bị y tế phải thử nghiệm lâm sàng có trách nhiệm sau đây:

- a) Bồi thường thiệt hại cho người tham gia thử nghiệm lâm sàng theo quy định của pháp luật nếu có rủi ro xảy ra do thử nghiệm lâm sàng;
- b) Giao kết hợp đồng bằng văn bản về việc thử nghiệm lâm sàng với cơ sở nhận thử nghiệm lâm sàng;
- c) Chịu trách nhiệm trước pháp luật về chất lượng và tính an toàn của kỹ thuật mới, phương pháp mới, thiết bị y tế do mình cung cấp.

### **Điều 98. Quyền và trách nhiệm của cơ sở nhận thử nghiệm lâm sàng**

1. Cơ sở nhận thử nghiệm lâm sàng có quyền sau đây:

- a) Tiến hành hoạt động nhận thử nghiệm lâm sàng theo quy định;
- b) Nhập khẩu, mua hóa chất, chất chuẩn, mẫu thuốc, thiết bị y tế phục vụ cho hoạt động thử nghiệm lâm sàng;
- c) Sử dụng kết quả thử nghiệm lâm sàng theo thỏa thuận với tổ chức, cá nhân có kỹ thuật mới, phương pháp mới, thiết bị y tế phải thử nghiệm lâm sàng.

2. Cơ sở nhận thử nghiệm lâm sàng có trách nhiệm sau đây:

- a) Chịu trách nhiệm về tính đầy đủ, chính xác, tin cậy của kết quả thử nghiệm lâm sàng;
- b) Chịu trách nhiệm về sự an toàn của người tham gia thử nghiệm lâm sàng và bồi thường thiệt hại cho người tham gia thử nghiệm lâm sàng theo quy định của pháp luật nếu có rủi ro xảy ra do lỗi của cơ sở nhận thử nghiệm lâm sàng;
- c) Bảo đảm trung thực, khách quan trong thử nghiệm lâm sàng.

**Điều 99. Nguyên tắc và thẩm quyền phê duyệt thử nghiệm lâm sàng**

1. Thử nghiệm lâm sàng được thực hiện trước khi cho phép áp dụng kỹ thuật mới, phương pháp mới hoặc đăng ký lưu hành thiết bị y tế, trừ trường hợp được miễn thử nghiệm lâm sàng hoặc được miễn một số giai đoạn thử nghiệm lâm sàng.

2. Việc thử nghiệm lâm sàng chỉ được thực hiện sau khi đã được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học quy định tại khoản 3 Điều này đánh giá về khoa học, đạo đức đối với hồ sơ thử nghiệm lâm sàng và được cơ quan có thẩm quyền phê duyệt bằng văn bản.

3. Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học là hội đồng độc lập được thành lập để bảo vệ quyền, sự an toàn và sức khỏe của người tham gia thử nghiệm lâm sàng.

4. Việc thử nghiệm lâm sàng, đánh giá về khoa học, đạo đức đối với hồ sơ thử nghiệm lâm sàng và phê duyệt thử nghiệm lâm sàng được thực hiện theo các nguyên tắc cơ bản sau đây:

- a) Tôn trọng, bảo vệ, bảo đảm quyền tự quyết của người tham gia thử nghiệm lâm sàng;
- b) Bảo đảm lợi ích của nghiên cứu lớn hơn rủi ro có nguy cơ xảy ra trong quá trình thử nghiệm lâm sàng;
- c) Bình đẳng về lợi ích và trách nhiệm; bảo đảm nguy cơ rủi ro được phân bố đều cho người tham gia thử nghiệm lâm sàng;
- d) Bảo đảm thực hiện các giai đoạn thử nghiệm lâm sàng và tuân thủ thực hành tốt thử kỹ thuật mới, phương pháp mới hoặc thử thiết bị y tế trên lâm sàng theo quy định của Bộ trưởng Bộ Y tế.

5. Chính phủ quy định cụ thể các nội dung sau đây:

- a) Các giai đoạn thử nghiệm lâm sàng;
- b) Trường hợp được miễn thử nghiệm lâm sàng hoặc được miễn một số giai đoạn thử nghiệm lâm sàng;

- c) Yêu cầu đối với kỹ thuật mới, phương pháp mới, thiết bị y tế phải thử nghiệm lâm sàng;
- d) Yêu cầu đối với cơ sở nhận thử nghiệm lâm sàng;
- đ) Hồ sơ, quy trình, thủ tục cho phép thử nghiệm lâm sàng;
- e) Việc thành lập Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học.

## **Chương IX**

### **SAI SÓT CHUYÊN MÔN KỸ THUẬT**

#### **Điều 100. Xác định người hành nghề có sai sót chuyên môn kỹ thuật**

1. Người hành nghề có sai sót chuyên môn kỹ thuật khi được Hội đồng chuyên môn quy định tại Điều 101 của Luật này xác định có ít nhất một trong các hành vi sau đây:

- a) Vi phạm trách nhiệm trong chăm sóc, điều trị người bệnh;
- b) Vi phạm các quy định về chuyên môn kỹ thuật.

2. Người hành nghề không có sai sót chuyên môn kỹ thuật khi được Hội đồng chuyên môn quy định tại Điều 101 của Luật này xác định thuộc một trong các trường hợp sau đây:

a) Trong quá trình khám bệnh, chữa bệnh, người hành nghề đã thực hiện đúng trách nhiệm chăm sóc, điều trị người bệnh và các quy định về chuyên môn kỹ thuật nhưng vẫn xảy ra tai biến y khoa đối với người bệnh;

b) Trường hợp cấp cứu nhưng do thiếu phương tiện, thiết bị y tế, thuốc, thiếu người hành nghề mà không thể khắc phục được; trường hợp bệnh chưa có hướng dẫn chuyên môn kỹ thuật để thực hiện dẫn đến xảy ra tai biến y khoa đối với người bệnh;

c) Trường hợp bất khả kháng, trở ngại khách quan hoặc lý do khách quan khác dẫn đến xảy ra tai biến y khoa đối với người bệnh;

d) Trường hợp tai biến y khoa do người bệnh tự gây ra.

#### **Điều 101. Hội đồng chuyên môn**

1. Khi xảy ra tai biến y khoa mà có tranh chấp cần giải quyết, theo đề nghị của người bệnh, người đại diện của người bệnh hoặc của người hành nghề thì cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phải thành lập Hội đồng chuyên môn để xác định người hành nghề có hay không có sai sót chuyên môn kỹ thuật.

2. Hội đồng chuyên môn bao gồm các thành phần sau đây:

- a) Chuyên gia thuộc lĩnh vực chuyên môn phù hợp;
- b) Chuyên gia thuộc các chuyên khoa, chuyên ngành khác có liên quan đến tai biến y khoa.

3. Việc trưng cầu các chuyên gia tham gia Hội đồng chuyên môn phải bảo đảm khách quan, không xung đột lợi ích theo quy định của pháp luật.

4. Hội đồng chuyên môn được thành lập trong các trường hợp sau đây:

a) Hội đồng chuyên môn do cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tự thành lập theo quy định tại khoản 1 Điều này. Trường hợp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không tự thành lập được Hội đồng chuyên môn thì phải đề nghị cơ quan nhà nước có thẩm quyền về y tế quản lý trực tiếp thành lập;

b) Hội đồng chuyên môn do cơ quan nhà nước có thẩm quyền về y tế quản lý trực tiếp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thành lập trong trường hợp có đề nghị của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh theo quy định tại điểm a khoản này hoặc có đề nghị bằng văn bản của bên tranh chấp khi không nhất trí với kết luận của Hội đồng chuyên môn do cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tự thành lập;

c) Hội đồng chuyên môn do Bộ Y tế thành lập trong trường hợp có đề nghị bằng văn bản của bên tranh chấp khi không nhất trí với kết luận của Hội đồng chuyên môn do cơ quan nhà nước có thẩm quyền về y tế quản lý trực tiếp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thành lập.

5. Hội đồng chuyên môn hoạt động theo các nguyên tắc sau đây:

a) Hội đồng chuyên môn hoạt động theo nguyên tắc thảo luận tập thể, quyết định theo đa số và chịu trách nhiệm trước pháp luật về kết luận của mình;

b) Kết luận của Hội đồng chuyên môn là cơ sở để giải quyết tranh chấp khi xảy ra tai biến y khoa và là căn cứ để cơ quan quản lý nhà nước có thẩm quyền về y tế, người đứng đầu cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quyết định áp dụng các biện pháp xử lý theo thẩm quyền đối với người hành nghề;

c) Kết luận của Hội đồng chuyên môn do Bộ Y tế thành lập là kết luận cuối cùng về việc có hay không có sai sót chuyên môn kỹ thuật.

6. Bộ trưởng Bộ Y tế quy định về quy chế tổ chức, hoạt động của Hội đồng chuyên môn và trình tự, thủ tục giải quyết tranh chấp khi xảy ra tai biến y khoa.

### **Điều 102. Bồi thường khi xảy ra tai biến y khoa**

Trường hợp xảy ra tai biến y khoa đối với người bệnh, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm bồi thường cho người bệnh theo quy định của pháp luật, trừ trường hợp quy định tại khoản 2 Điều 100 của Luật này.

### **Điều 103. Bảo hiểm trách nhiệm nghề nghiệp trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Bảo hiểm trách nhiệm nghề nghiệp trong khám bệnh, chữa bệnh là loại hình bảo hiểm được sử dụng để chi trả chi phí bồi thường cho những thiệt hại do tai biến y khoa trong quá trình khám bệnh, chữa bệnh xảy ra trong thời hạn bảo hiểm và chi phí khiếu kiện pháp lý liên quan tới tai biến y khoa đó, trừ trường hợp quy định tại điểm d khoản 2 Điều 100 của Luật này.

2. Doanh nghiệp bảo hiểm có trách nhiệm chi trả chi phí bồi thường quy định tại khoản 1 Điều này cho cơ sở khám bệnh, chữa bệnh theo hợp đồng bảo hiểm đã được giao kết.

3. Bảo hiểm trách nhiệm nghề nghiệp trong khám bệnh, chữa bệnh thực hiện theo quy định của pháp luật về kinh doanh bảo hiểm.

4. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

## **Chương X**

### **ĐIỀU KIỆN BẢO ĐẢM**

### **HOẠT ĐỘNG KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH**

#### **Mục 1**

#### **ĐIỀU KIỆN BẢO ĐẢM VỀ CHUYÊN MÔN KỸ THUẬT**

##### **Điều 104. Cấp chuyên môn kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh**

1. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh của Nhà nước, tư nhân được chia thành 03 cấp chuyên môn kỹ thuật như sau:

a) Cấp khám bệnh, chữa bệnh ban đầu thực hiện nhiệm vụ khám bệnh, điều trị ngoại trú, chăm sóc sức khỏe ban đầu; quản lý bệnh tật, phục hồi chức năng tại cộng đồng;

b) Cấp khám bệnh, chữa bệnh cơ bản thực hiện nhiệm vụ khám bệnh, điều trị ngoại trú, nội trú tổng quát; đào tạo thực hành tổng quát, tổ chức cập nhật kiến thức y khoa liên tục cho người hành nghề;

c) Cấp khám bệnh, chữa bệnh chuyên sâu thực hiện nhiệm vụ khám bệnh, điều trị ngoại trú, nội trú chuyên sâu; đào tạo thực hành chuyên sâu; nghiên cứu, đào tạo liên tục chuyên sâu; chuyển giao kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh.

2. Các cấp chuyên môn kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh được tổ chức bảo đảm tính liên tục, liên thông trong cung cấp dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh theo tình trạng, mức độ bệnh và bảo đảm các nguyên tắc sau đây:

a) Một cơ sở khám bệnh, chữa bệnh chỉ được xếp vào một cấp chuyên môn kỹ thuật; trường hợp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thực hiện được nhiệm vụ của cả 03 cấp chuyên môn kỹ thuật thì được xếp vào cấp chuyên sâu; trường hợp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thực hiện được nhiệm vụ của cấp ban đầu và cấp cơ bản thì được xếp vào cấp cơ bản;



b) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc cấp nào phải tập trung thực hiện các nhiệm vụ của cấp đó và được thực hiện kỹ thuật chuyên môn của cấp khác nếu đáp ứng đủ điều kiện theo quy định của Bộ trưởng Bộ Y tế; thực hiện nhiệm vụ của cấp chuyên môn kỹ thuật khác phù hợp với đặc thù của ngành, lĩnh vực theo quy định của Chính phủ.

3. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được xếp vào cấp chuyên môn kỹ thuật theo các tiêu chí sau đây:

a) Năng lực cung cấp dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh và phạm vi hoạt động chuyên môn;

b) Năng lực tham gia đào tạo thực hành y khoa;

c) Năng lực tham gia hỗ trợ kỹ thuật cho cơ sở khám bệnh, chữa bệnh khác;

d) Năng lực nghiên cứu khoa học về y học.

4. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

#### **Điều 105. Đào tạo, bồi dưỡng người hành nghề**

1. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm tổ chức, tạo điều kiện cho người hành nghề tham gia đào tạo, cập nhật kiến thức y khoa liên tục, bồi dưỡng về chuyên môn kỹ thuật, đạo đức nghề nghiệp.

2. Nhà nước có chính sách về cấp học bổng như sau:

a) Cấp học bổng khuyến khích học tập cho người học chuyên ngành tâm thần, giải phẫu bệnh, pháp y, pháp y tâm thần, truyền nhiễm và hồi sức cấp cứu có kết quả học tập, rèn luyện đủ điều kiện để cấp học bổng tại cơ sở đào tạo thuộc khối ngành sức khỏe của Nhà nước;

b) Cấp học bổng chính sách cho người học chuyên ngành tâm thần, giải phẫu bệnh, pháp y, pháp y tâm thần, truyền nhiễm và hồi sức cấp cứu là người đang làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tại vùng có điều kiện kinh tế - xã hội khó khăn và vùng có điều kiện kinh tế - xã hội đặc biệt khó khăn.

3. Nhà nước hỗ trợ đối với người học chuyên ngành tâm thần, giải phẫu bệnh, pháp y, pháp y tâm thần, truyền nhiễm và hồi sức cấp cứu như sau:

a) Hỗ trợ toàn bộ học phí và hỗ trợ chi phí sinh hoạt trong toàn khóa học nếu học tại cơ sở đào tạo thuộc khối ngành sức khỏe của Nhà nước;

b) Hỗ trợ tiền đóng học phí và hỗ trợ chi phí sinh hoạt trong toàn khóa học tương ứng với mức quy định tại điểm a khoản này nếu học tại cơ sở đào tạo thuộc khối ngành sức khỏe của tư nhân.

4. Nhà nước khuyến khích tổ chức, cá nhân cấp học bổng hoặc trợ cấp cho người học.

5. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

**Mục 2****ĐIỀU KIỆN BẢO ĐẢM VỀ TÀI CHÍNH****Điều 106. Nguồn tài chính cho khám bệnh, chữa bệnh**

1. Các nguồn tài chính cho khám bệnh, chữa bệnh bao gồm:
  - a) Ngân sách nhà nước;
  - b) Quỹ bảo hiểm y tế;
  - c) Kinh phí chi trả của người bệnh;
  - d) Viện trợ, tài trợ, hỗ trợ của tổ chức, cá nhân trong nước và nước ngoài theo quy định của pháp luật;
  - đ) Nguồn tài chính hợp pháp khác theo quy định của pháp luật.

2. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thực hiện chế độ tài chính, kế toán, kiểm toán, thuế, định giá tài sản và công khai tài chính theo quy định của pháp luật.

**Điều 107. Ngân sách nhà nước chi cho khám bệnh, chữa bệnh**

1. Chi cho cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thực hiện việc cung cấp dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh thuộc danh mục dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh sử dụng ngân sách nhà nước theo quy định của pháp luật và thực hiện nhiệm vụ do cơ quan nhà nước có thẩm quyền đặt hàng, giao nhiệm vụ.

2. Chi hỗ trợ cơ sở khám bệnh, chữa bệnh của Nhà nước theo quy định của pháp luật về ngân sách nhà nước, pháp luật về cơ chế tự chủ về tài chính đối với đơn vị sự nghiệp công lập, bao gồm bảo đảm chi thường xuyên cho cơ sở khám bệnh, chữa bệnh của Nhà nước trong trường hợp không cân đối được chi thường xuyên.

3. Chi đầu tư phát triển cơ sở khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của pháp luật.

4. Chi đóng, hỗ trợ tiền đóng bảo hiểm y tế cho đối tượng được Nhà nước đóng hoặc hỗ trợ theo quy định của pháp luật về bảo hiểm y tế.

**Điều 108. Quy định về tự chủ đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh của Nhà nước**

1. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh của Nhà nước được Nhà nước bảo đảm kinh phí để thực hiện chức năng, nhiệm vụ do cơ quan nhà nước có thẩm quyền giao; có trách nhiệm sử dụng hiệu quả các nguồn tài chính theo quy định của pháp luật, phát huy tiềm năng, thế mạnh, nâng cao chất lượng khám bệnh, chữa bệnh.

2. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thực hiện tự chủ được tự chủ trong quyết định về tổ chức và nhân sự, thực hiện nhiệm vụ, phát triển các hoạt động chuyên môn, các hoạt động khác phục vụ khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của Luật này và quy định khác của pháp luật có liên quan.

3. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thực hiện tự chủ về tài chính theo quy định của pháp luật và các nội dung sau:

a) Quyết định nội dung thu, mức thu của các dịch vụ, hàng hóa liên quan đến hoạt động khám bệnh, chữa bệnh, phục vụ người bệnh, thân nhân của người bệnh theo quy định của pháp luật, trừ dịch vụ, hàng hóa do Nhà nước định giá;

b) Quyết định sử dụng nguồn thu hợp pháp để đầu tư các dự án thực hiện hoạt động khám bệnh, chữa bệnh theo quy định của pháp luật;

c) Quyết định nội dung chi và mức chi từ nguồn thu dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh và thu sự nghiệp, nguồn kinh phí đặt hàng theo quy chế chi tiêu nội bộ của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phù hợp với quy định của pháp luật và khả năng tài chính của cơ sở;

d) Quyết định sử dụng tài sản công theo quy định của pháp luật nhằm mục đích phát triển hoạt động khám bệnh, chữa bệnh theo nguyên tắc bảo toàn, phát triển; tiếp nhận, quản lý, khai thác, sử dụng các tài sản do tổ chức, cá nhân cho, tặng trên nguyên tắc công khai, minh bạch và không ràng buộc lợi ích giữa các bên để phục vụ công tác khám bệnh, chữa bệnh;

đ) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tự bảo đảm chi đầu tư và chi thường xuyên được quyết định giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh nhưng không vượt quá giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh tương ứng do Bộ trưởng Bộ Y tế quy định, trừ giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh theo yêu cầu và giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh hình thành từ hoạt động hợp tác theo hình thức đối tác công tư thực hiện theo quy định tại khoản 7 và khoản 9 Điều 110 của Luật này.

4. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Điều 109. Xã hội hóa trong hoạt động khám bệnh, chữa bệnh**

1. Tổ chức, gia đình và cá nhân có trách nhiệm tự chăm lo sức khỏe, phát hiện bệnh sớm cho thành viên trong tổ chức, gia đình và bản thân; tham gia cấp cứu, hỗ trợ giải quyết các trường hợp xảy ra tai nạn, thương tích tại cộng đồng và tham gia hoạt động khám bệnh, chữa bệnh khi có sự huy động của cơ quan, người có thẩm quyền.

2. Nhà nước thực hiện đa dạng hóa các loại hình dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh; tổ chức, cá nhân tham gia xây dựng cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được hưởng chính sách ưu đãi theo quy định của pháp luật về xã hội hóa, bảo đảm nguyên tắc công khai, minh bạch, bình đẳng, bền vững, hiệu quả, hài hòa lợi ích giữa Nhà nước, nhà đầu tư, người bệnh và cộng đồng; khuyến khích cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tư nhân hoạt động khám bệnh, chữa bệnh nhân đạo, không vì mục đích lợi nhuận; khuyến khích thành lập quỹ hỗ trợ khám bệnh, chữa bệnh.

3. Hình thức thu hút nguồn lực xã hội trong hoạt động khám bệnh, chữa bệnh bao gồm:

- a) Đầu tư thành lập cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tư nhân;
- b) Đầu tư theo phương thức đối tác công tư để thành lập cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;
- c) Vay vốn để đầu tư công trình hạ tầng, thiết bị y tế;
- d) Thuê, cho thuê tài sản, dịch vụ lâm sàng, dịch vụ cận lâm sàng, dịch vụ phi y tế, dịch vụ nhà thuốc, quản lý vận hành cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;
- đ) Mua trả chậm, trả dần; thuê, mượn thiết bị y tế;
- e) Tài trợ, viện trợ từ các tổ chức, cá nhân trong nước và nước ngoài;
- g) Hình thức khác theo quy định của pháp luật về quản lý, sử dụng tài sản công và quy định khác của pháp luật có liên quan.

4. Việc thực hiện thu hút nguồn lực xã hội trong hoạt động khám bệnh, chữa bệnh đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh của Nhà nước được thực hiện theo quy định của pháp luật.

5. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

#### **Điều 110. Giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh**

1. Giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh bao gồm các yếu tố sau đây:

- a) Giá thành toàn bộ của dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh quy định tại khoản 2 Điều này;
- b) Tích lũy hoặc lợi nhuận dự kiến (nếu có);
- c) Các nghĩa vụ tài chính theo quy định của pháp luật.

2. Giá thành toàn bộ của dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh bao gồm các chi phí sau đây:

- a) Chi phí nhân công bao gồm tiền lương, tiền công phù hợp với loại hình cung cấp dịch vụ, các khoản đóng góp theo lương và các khoản phụ cấp theo quy định;
- b) Chi phí trực tiếp bao gồm chi phí thuốc, hóa chất, máu, chế phẩm máu và chi phí nguyên liệu, vật liệu, công cụ, dụng cụ, nhiên liệu, năng lượng sử dụng trong khám bệnh, chữa bệnh và các khoản chi phí trực tiếp khác;
- c) Chi phí khấu hao thiết bị y tế, tài sản cố định;

d) Chi phí quản lý bao gồm chi phí duy tu, bảo dưỡng thiết bị y tế, tài sản cố định, chi phí bảo vệ môi trường, kiểm soát nhiễm khuẩn, chi phí đào tạo, nghiên cứu khoa học, công nghệ thông tin, chi phí mua bảo hiểm trách nhiệm nghề nghiệp, chi phí quản lý chất lượng, lãi vay (nếu có) và các chi phí khác có liên quan đến hoạt động khám bệnh, chữa bệnh.

3. Việc định giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh bảo đảm phù hợp với loại hình cung cấp dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh và các nguyên tắc sau đây:

a) Bù đắp chi phí thực hiện khám bệnh, chữa bệnh phù hợp với quy định tại điểm b và điểm c khoản 4 Điều này;

b) Hải hòa lợi ích của Nhà nước, quyền và lợi ích hợp pháp của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh và người bệnh;

c) Rà soát các yếu tố hình thành giá để điều chỉnh giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp cần thiết. Việc điều chỉnh giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh bảo đảm phù hợp với các căn cứ định giá quy định tại khoản 4 Điều này.

4. Việc định giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh dựa trên các căn cứ sau đây:

a) Yếu tố hình thành giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh quy định tại khoản 1 Điều này tại thời điểm định giá;

b) Quan hệ cung cầu của dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh, khả năng chi trả của người bệnh;

c) Chủ trương, chính sách, pháp luật về tự chủ đối với đơn vị sự nghiệp công lập trong từng thời kỳ, chủ trương, chính sách phát triển kinh tế - xã hội của Nhà nước trong từng thời kỳ theo lộ trình tính đúng, tính đủ giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh do Chính phủ quy định.

5. Bộ trưởng Bộ Y tế có trách nhiệm sau đây:

a) Chủ trì phối hợp với Bộ trưởng Bộ Tài chính quy định phương pháp định giá đối với dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh;

b) Quy định giá cụ thể dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh thuộc danh mục do quỹ bảo hiểm y tế thanh toán, giá cụ thể dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh do ngân sách nhà nước thanh toán, giá cụ thể dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh không thuộc danh mục do quỹ bảo hiểm y tế thanh toán mà không phải là dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh theo yêu cầu đối với các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc Bộ Y tế và các Bộ khác.

6. Hội đồng nhân dân cấp tỉnh quy định giá cụ thể dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh quy định tại điểm b khoản 5 Điều này đối với các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh của Nhà nước trên địa bàn quản lý thuộc phạm vi được phân quyền nhưng không được vượt quá giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh tương ứng do Bộ trưởng Bộ Y tế quy định.

7. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh của Nhà nước áp dụng giá cụ thể dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh đối với người bệnh không có thẻ bảo hiểm y tế sử dụng các dịch vụ thuộc danh mục do quỹ bảo hiểm y tế chi trả mà không phải là dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh theo yêu cầu; quyết định giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh theo yêu cầu và phải kê khai giá, niêm yết công khai giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh theo yêu cầu.

8. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tư nhân được quyền quyết định và phải kê khai giá, niêm yết công khai giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh.

9. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được đầu tư theo phương thức đối tác công tư quyết định giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh theo pháp luật về đầu tư theo phương thức đối tác công tư.

10. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Điều 111. Quỹ hỗ trợ khám bệnh, chữa bệnh**

1. Quỹ hỗ trợ khám bệnh, chữa bệnh được thành lập để hỗ trợ chi phí khám bệnh, chữa bệnh cho người bệnh có hoàn cảnh khó khăn hoặc không có khả năng chi trả chi phí khám bệnh, chữa bệnh; chi trả cho các trường hợp rủi ro nghề nghiệp trong khám bệnh, chữa bệnh và các hoạt động khác phục vụ cho công tác khám bệnh, chữa bệnh.

2. Quỹ hỗ trợ khám bệnh, chữa bệnh gồm các loại sau đây:

a) Quỹ hỗ trợ khám bệnh, chữa bệnh do tổ chức, cá nhân thành lập được tổ chức, hoạt động và quản lý theo quy định của pháp luật về quỹ xã hội, quỹ từ thiện;

b) Quỹ hỗ trợ khám bệnh, chữa bệnh do cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thành lập từ nguồn tài trợ, viện trợ của các tổ chức, cá nhân, nguồn kinh phí của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh (nếu có) và các nguồn kinh phí khác theo quy định của pháp luật được tổ chức, hoạt động và quản lý theo quy định tại quy chế chi tiêu nội bộ của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phù hợp với quy định của pháp luật.

## **Mục 3**

### **CÁC ĐIỀU KIỆN BẢO ĐẢM KHÁC**

#### **Điều 112. Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh**

1. Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh bao gồm thông tin về các nội dung chủ yếu sau đây:

a) Người bệnh và thông tin sức khỏe của từng cá nhân;

b) Người hành nghề;

c) Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

d) Chuyên môn kỹ thuật;

đ) Giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh, giá dịch vụ chăm sóc, hỗ trợ theo yêu cầu;

e) Chi phí khám bệnh, chữa bệnh, bao gồm cả chi phí khám bệnh, chữa bệnh do quỹ bảo hiểm y tế thanh toán.

2. Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh do Bộ Y tế thống nhất, tập trung quản lý, phải đáp ứng các điều kiện bảo đảm an toàn, bảo mật thông tin theo quy định của pháp luật và bảo đảm liên thông với cơ sở dữ liệu quốc gia.

3. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có trách nhiệm cung cấp đầy đủ, chính xác, kịp thời các thông tin lên Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh.

4. Cơ quan bảo hiểm xã hội có trách nhiệm cung cấp đầy đủ, chính xác, kịp thời thông tin về thanh toán chi phí khám bệnh, chữa bệnh bảo hiểm y tế lên Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh.

5. Bộ trưởng Bộ Y tế quy định các nội dung sau đây:

a) Chuẩn định dạng dữ liệu đầu ra đối với Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh quy định tại khoản 1 Điều này;

b) Việc xây dựng, quản lý, khai thác, sử dụng Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh.

### **Điều 113. Thiết bị y tế**

1. Thiết bị y tế sử dụng tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phải được phép lưu hành hợp pháp tại Việt Nam.

2. Việc sử dụng, kiểm tra, bảo dưỡng, bảo trì, sửa chữa, thay thế vật tư linh kiện, kiểm định, hiệu chuẩn thiết bị y tế phải tuân thủ quy định của nhà sản xuất, trừ trường hợp pháp luật có quy định khác về kiểm định, hiệu chuẩn.

3. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh phải lập, quản lý, lưu trữ đầy đủ hồ sơ theo dõi thiết bị y tế.

4. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

### **Điều 114. Bảo đảm an ninh, trật tự tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh**

1. Các biện pháp bảo đảm an ninh, trật tự cho cơ sở khám bệnh, chữa bệnh và an toàn cho người hành nghề, người khác làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh bao gồm:

a) Thiết lập hệ thống giám sát và cảnh báo nguy cơ gây mất an ninh, trật tự;

b) Giới hạn ra vào cơ sở khám bệnh, chữa bệnh theo giờ và khu vực;

c) Ứng dụng các giải pháp công nghệ cao để quản lý người bệnh, thân nhân của người bệnh, người hành nghề để tăng cường an ninh, trật tự đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

d) Có biện pháp phù hợp để bảo quản tài sản cho người bệnh và thân nhân của người bệnh trong quá trình khám bệnh, chữa bệnh tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;

- d) Không cho phép đưa vào cơ sở khám bệnh, chữa bệnh các chất, phương tiện, công cụ, vật dụng gây mất an ninh, trật tự cho cơ sở khám bệnh, chữa bệnh;
- e) Biện pháp bảo đảm an ninh, trật tự khác theo quy định của pháp luật.

2. Trong trường hợp người bệnh, thân nhân của người bệnh hoặc người khác có hành vi gây mất trật tự công cộng, xâm phạm tính mạng, sức khỏe an toàn của người bệnh, người hành nghề, người khác làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, người ra vào cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thì cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được áp dụng biện pháp sau đây:

a) Áp dụng các biện pháp ngăn chặn theo quy định của pháp luật và thông báo cho cơ quan công an, trừ trường hợp người vi phạm là người bệnh đang trong tình trạng cấp cứu;

b) Giới hạn việc ra vào khu vực bị mất an ninh, trật tự hoặc có nguy cơ bị mất an ninh, trật tự tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

3. Căn cứ quy định của Luật này và quy định khác của pháp luật có liên quan, người đứng đầu cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quy định và tổ chức triển khai các biện pháp bảo đảm an ninh, trật tự cho cơ sở khám bệnh, chữa bệnh và an toàn cho người hành nghề, người khác làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, người ra vào cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

4. Người có hành vi xâm phạm thân thể, sức khỏe, tính mạng hoặc xúc phạm danh dự, nhân phẩm của người hành nghề và người khác làm việc tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thì tùy theo tính chất, mức độ vi phạm mà bị xử lý vi phạm hành chính hoặc bị truy cứu trách nhiệm hình sự theo quy định của pháp luật.

## **Chương XI**

### **HUY ĐỘNG, ĐIỀU ĐỘNG NGUỒN LỰC PHỤC VỤ CÔNG TÁC KHÁM BỆNH, CHỮA BỆNH TRONG TRƯỜNG HỢP XẢY RA THIÊN TAI, THẢM HỌA, DỊCH BỆNH TRUYỀN NHIỄM THUỘC NHÓM A HOẶC TÌNH TRẠNG KHẨN CẤP**

**Điều 115. Huy động, điều động người tham gia hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp**

1. Cơ quan, người có thẩm quyền được huy động, điều động những người sau đây tham gia khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp mà không phải điều chỉnh hoặc cấp mới giấy phép hành nghề:

a) Người hành nghề khám bệnh, chữa bệnh, bao gồm cả người nước ngoài đang hành nghề tại Việt Nam;



b) Người nước ngoài, người Việt Nam định cư ở nước ngoài đã được cơ quan, tổ chức có thẩm quyền của nước ngoài cấp giấy phép hành nghề;

c) Học viên, sinh viên, học sinh đang học tại cơ sở đào tạo thuộc khối ngành sức khỏe; người thuộc đối tượng được cấp giấy phép hành nghề khám bệnh, chữa bệnh nhưng chưa được cấp giấy phép hành nghề.

2. Việc phân công nhiệm vụ cho các đối tượng quy định tại khoản 1 Điều này phải bảo đảm phù hợp đến mức tối đa với trình độ chuyên môn của người được huy động, điều động và an toàn cho người bệnh.

3. Trong quá trình thực hiện nhiệm vụ, người được huy động, điều động quy định tại khoản 1 Điều này không phải chịu trách nhiệm đối với tai biến y khoa khi thuộc một trong các trường hợp quy định tại khoản 2 Điều 100 của Luật này.

4. Bộ trưởng Bộ Y tế quy định việc huy động, điều động, phân công nhiệm vụ đối với các đối tượng quy định tại khoản 1 và khoản 2 Điều này.

**Điều 116. Huy động, điều động cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tham gia hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp**

1. Thành lập mới cơ sở khám bệnh, chữa bệnh của Nhà nước theo một trong các hình thức quy định tại khoản 1 Điều 48 của Luật này để thực hiện hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp mà không cần đáp ứng đầy đủ các điều kiện theo quy định của Luật này và không phải cấp mới giấy phép hoạt động.

2. Khi được huy động, điều động tham gia hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không phải điều chỉnh giấy phép hoạt động, kể cả trường hợp việc khám bệnh, chữa bệnh khác với phạm vi hoạt động chuyên môn.

3. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

**Điều 117. Cơ chế tài chính đối với hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp**

1. Ngân sách nhà nước bảo đảm theo phân cấp đối với:

a) Tiền lương, tiền công, phụ cấp, các khoản đóng góp theo quy định của pháp luật và các chế độ khác (nếu có) đối với người làm việc tại các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh quy định tại khoản 1 Điều 116 của Luật này đang hưởng tiền lương và tiền công theo quy định của pháp luật và được huy động, điều động hỗ trợ thực hiện hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp;

b) Phụ cấp, các chế độ khác (nếu có) đối với người được huy động, điều động hỗ trợ thực hiện hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp không hưởng tiền lương, tiền công theo quy định của pháp luật.

2. Nguồn kinh phí bảo đảm chi thường xuyên của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được huy động, điều động quy định tại khoản 1 Điều 116 của Luật này, bao gồm ngân sách nhà nước, nguồn quỹ bảo hiểm y tế, nguồn chi trả của người sử dụng dịch vụ và các nguồn thu hợp pháp khác theo quy định của pháp luật, trong đó:

a) Ngân sách trung ương bảo đảm kinh phí cho cơ sở khám bệnh, chữa bệnh do trung ương thành lập. Trường hợp ngân sách địa phương đã bảo đảm một phần kinh phí hoạt động cho cơ sở khám bệnh, chữa bệnh do trung ương thành lập đóng trên địa bàn địa phương, ngân sách trung ương không phải chi trả các khoản chi đó;

b) Ngân sách địa phương bảo đảm kinh phí cho các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh do địa phương thành lập. Trường hợp địa phương đã sử dụng hết các nguồn lực theo quy định nhưng không bảo đảm được thì ngân sách trung ương xem xét hỗ trợ.

3. Ngân sách nhà nước bảo đảm kinh phí cho các hoạt động phục vụ phòng, chống, khắc phục hậu quả trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được huy động, điều động.

4. Chính phủ quy định chi tiết Điều này.

**Điều 118. Thẩm quyền điều động tham gia hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp**

1. Bộ trưởng Bộ Y tế điều động nhân lực, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh tham gia hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp trên phạm vi toàn quốc theo đề nghị của các cơ quan, tổ chức, địa phương, trừ nhân lực, cơ sở khám bệnh, chữa bệnh thuộc lực lượng vũ trang nhân dân.

2. Người đứng đầu các Bộ, ngành khác và Chủ tịch Ủy ban nhân dân cấp tỉnh điều động nhân lực thuộc thẩm quyền quản lý tham gia hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trong trường hợp xảy ra thiên tai, thảm họa, dịch bệnh truyền nhiễm thuộc nhóm A hoặc tình trạng khẩn cấp.

## Chương XII

### ĐIỀU KHOẢN THI HÀNH

#### **Điều 119. Sửa đổi, bổ sung một số điều của một số luật liên quan đến khám bệnh, chữa bệnh**

1. Sửa đổi, bổ sung khoản 10 Điều 4 của Luật Thuế thu nhập doanh nghiệp số 14/2008/QH12 đã được sửa đổi, bổ sung một số điều theo Luật số 32/2013/QH13, Luật số 71/2014/QH13 và Luật số 61/2020/QH14 như sau:

“10. Phần thu nhập không chia của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh để lại để đầu tư phát triển cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đó; phần thu nhập không chia của cơ sở y tế thực hiện xã hội hóa nhưng không phải là cơ sở khám bệnh, chữa bệnh và phần thu nhập không chia của cơ sở thực hiện xã hội hóa trong lĩnh vực giáo dục - đào tạo, lĩnh vực xã hội hóa khác để lại để đầu tư phát triển cơ sở đó theo quy định của luật chuyên ngành về lĩnh vực giáo dục - đào tạo, y tế và lĩnh vực xã hội hóa khác; phần thu nhập hình thành tài sản không chia của hợp tác xã được thành lập và hoạt động theo quy định của Luật Hợp tác xã.”

2. Thay cụm từ “Luật Khám bệnh, chữa bệnh số 40/2009/QH12” bằng cụm từ “Luật Khám bệnh, chữa bệnh số 15/2023/QH15” tại điểm 26 Phụ lục II về Danh mục các quy hoạch có tính chất kỹ thuật, chuyên ngành của Luật Quy hoạch số 21/2017/QH14.

#### **Điều 120. Hiệu lực thi hành**

1. Luật này có hiệu lực thi hành từ ngày 01 tháng 01 năm 2024, trừ trường hợp quy định tại các khoản 3, 4, 5, 6, 7, 8 và 9 Điều này.

2. Luật Khám bệnh, chữa bệnh số 40/2009/QH12 đã được sửa đổi, bổ sung một số điều theo Luật số 21/2017/QH14 hết hiệu lực kể từ ngày Luật này có hiệu lực thi hành.

3. Hội đồng Y khoa Quốc gia thực hiện nhiệm vụ kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề khám bệnh, chữa bệnh theo quy định sau đây:

- a) Từ ngày 01 tháng 01 năm 2027 đối với chức danh bác sỹ;
- b) Từ ngày 01 tháng 01 năm 2028 đối với các chức danh y sỹ, điều dưỡng, hộ sinh;
- c) Từ ngày 01 tháng 01 năm 2029 đối với các chức danh kỹ thuật y, dinh dưỡng lâm sàng, cấp cứu viên ngoại viện và tâm lý lâm sàng.

4. Điều kiện phải đáp ứng năng lực tiếng Việt đối với người nước ngoài quy định tại điểm c khoản 1 Điều 19 và điểm c khoản 2 Điều 30 của Luật này thực hiện từ ngày 01 tháng 01 năm 2032.

5. Quy định về hạ tầng công nghệ thông tin tại điểm d khoản 2 Điều 52 của Luật này thực hiện như sau:

a) Từ ngày 01 tháng 01 năm 2027 đối với trường hợp nộp hồ sơ đề nghị cấp giấy phép hoạt động từ ngày 01 tháng 01 năm 2027;

b) Chậm nhất từ ngày 01 tháng 01 năm 2029 đối với cơ sở khám bệnh, chữa bệnh được cấp giấy phép hoạt động trước ngày 01 tháng 01 năm 2027.

6. Việc áp dụng tiêu chuẩn chất lượng tại điểm a khoản 1 Điều 57 của Luật này thực hiện như sau:

a) Từ ngày 01 tháng 01 năm 2025 đối với bệnh viện;

b) Từ ngày 01 tháng 01 năm 2027 đối với các hình thức tổ chức khác của cơ sở khám bệnh, chữa bệnh.

7. Quy định về cấp chuyên môn kỹ thuật trong khám bệnh, chữa bệnh tại Điều 104 của Luật này thực hiện từ ngày 01 tháng 01 năm 2025.

8. Hoàn thành việc xây dựng và vận hành Hệ thống thông tin về quản lý hoạt động khám bệnh, chữa bệnh trước ngày 01 tháng 01 năm 2027.

9. Cơ quan chuyên môn về y tế thuộc Ủy ban nhân dân cấp tỉnh thực hiện việc cấp mới, cấp lại, điều chỉnh và thu hồi giấy phép hoạt động đối với bệnh viện từ nhân từ ngày 01 tháng 01 năm 2027.

### **Điều 121. Quy định chuyển tiếp**

1. Chứng chỉ hành nghề được cấp trước ngày 01 tháng 01 năm 2024 được chuyển đổi sang giấy phép hành nghề theo lộ trình do Chính phủ quy định và thực hiện việc gia hạn theo định kỳ 05 năm một lần kể từ ngày chuyển đổi theo quy định của Luật này.

2. Việc cấp chứng chỉ hành nghề đối với hồ sơ đã nộp trước ngày 01 tháng 01 năm 2024 được thực hiện theo quy định tại Luật Khám bệnh, chữa bệnh số 40/2009/QH12 đã được sửa đổi, bổ sung một số điều theo Luật số 21/2017/QH14.

3. Chứng chỉ hành nghề được cấp theo quy định tại khoản 2 Điều này phải được chuyển đổi sang giấy phép hành nghề và gia hạn theo quy định tại khoản 1 Điều này.

4. Quy định về sử dụng ngôn ngữ trong cấp phép và hành nghề khám bệnh, chữa bệnh đối với người nước ngoài, người Việt Nam định cư ở nước ngoài theo quy định tại Luật Khám bệnh, chữa bệnh số 40/2009/QH12 đã được sửa đổi, bổ sung một số điều theo Luật số 21/2017/QH14 được áp dụng đến hết ngày 31 tháng 12 năm 2031.

5. Việc đình chỉ, thu hồi đối với chứng chỉ hành nghề được cấp theo quy định của Luật Khám bệnh, chữa bệnh số 40/2009/QH12 đã được sửa đổi, bổ sung một số điều theo Luật số 21/2017/QH14 được thực hiện theo quy định về đình chỉ, thu hồi giấy phép hành nghề tại Luật này.

6. Người đề nghị cấp giấy phép hành nghề theo chức danh bác sỹ từ ngày 01 tháng 01 năm 2024 đến hết ngày 31 tháng 12 năm 2026 không phải kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề theo quy định của Luật này.

7. Người đề nghị cấp giấy phép hành nghề theo chức danh y sỹ, điều dưỡng, hộ sinh từ ngày 01 tháng 01 năm 2024 đến hết ngày 31 tháng 12 năm 2027 không phải kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề theo quy định của Luật này.

8. Người đề nghị cấp giấy phép hành nghề theo chức danh kỹ thuật y, dinh dưỡng lâm sàng, cấp cứu viên ngoại viện và tâm lý lâm sàng từ ngày 01 tháng 01 năm 2024 đến hết ngày 31 tháng 12 năm 2028 không phải kiểm tra đánh giá năng lực hành nghề theo quy định của Luật này.

9. Người được cấp phép hành nghề theo quy định tại các khoản 1, 2, 6, 7 và 8 Điều này phải tuân thủ các quy định có liên quan đến hành nghề theo quy định của Luật này.

10. Người được cấp văn bằng đào tạo y sỹ trình độ trung cấp sau ngày 31 tháng 12 năm 2026 thì không được cấp giấy phép hành nghề đối với chức danh y sỹ.

11. Cơ sở khám bệnh, chữa bệnh đã được cấp giấy phép hoạt động theo quy định của Luật Khám bệnh, chữa bệnh số 40/2009/QH12 đã được sửa đổi, bổ sung một số điều theo Luật số 21/2017/QH14 được tiếp tục hoạt động mà không phải cấp lại giấy phép hoạt động.

12. Hồ sơ đề nghị cấp giấy phép hoạt động đã nộp trước ngày 01 tháng 01 năm 2024 được tiếp tục giải quyết theo quy định của Luật Khám bệnh, chữa bệnh số 40/2009/QH12 đã được sửa đổi, bổ sung một số điều theo Luật số 21/2017/QH14.

13. Việc cấp giấy phép hoạt động đối với hồ sơ đề nghị cấp giấy phép hoạt động nộp từ ngày 01 tháng 01 năm 2024 đến hết ngày 31 tháng 12 năm 2026 được cấp theo quy định về hình thức tổ chức, điều kiện, thủ tục, thẩm quyền của Luật này, trừ quy định về điều kiện tại điểm d khoản 2 Điều 52 và quy định về thẩm quyền tại khoản 9 Điều 120 của Luật này. Việc cấp mới, cấp lại, điều chỉnh và thu hồi giấy phép hoạt động đối với bệnh viện tư nhân từ ngày 01 tháng 01 năm 2024 đến hết ngày 31 tháng 12 năm 2026 do Bộ trưởng Bộ Y tế thực hiện.

14. Việc đình chỉ, thu hồi đối với giấy phép hoạt động được cấp theo quy định của Luật Khám bệnh, chữa bệnh số 40/2009/QH12 đã được sửa đổi, bổ sung một số điều theo Luật số 21/2017/QH14 được thực hiện theo quy định về đình chỉ, thu hồi giấy phép hoạt động tại Luật này.

15. Chính phủ quy định chi tiết Điều này; quy định điều kiện cấp giấy phép hành nghề quy định tại các khoản 6, 7 và 8 Điều này.

---

*Luật này đã được Quốc hội nước Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam khóa XV, kỳ họp bất thường lần thứ 2 thông qua ngày 09 tháng 01 năm 2023.*



Số: **20** /2021/TT-BYT

Hà Nội, ngày **26** tháng **11** năm 2021

**THÔNG TƯ**

**Quy định về quản lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế**

*Căn cứ Luật Bảo vệ môi trường số 72/2020/QH14 ngày 17 tháng 11 năm 2020;*

*Căn cứ Nghị định số 75/2017/NĐ-CP ngày 20 tháng 6 năm 2017 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;*

*Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Quản lý môi trường y tế;*

*Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành Thông tư quy định về quản lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế.*

**Chương 1**

**QUY ĐỊNH CHUNG**

**Điều 1. Phạm vi điều chỉnh**

1. Thông tư này quy định chi tiết việc phân loại, thu gom, lưu giữ, quản lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế.

2. Thông tư này không quy định về quản lý chất thải phóng xạ phát sinh từ hoạt động y tế. Việc quản lý chất thải phóng xạ phát sinh từ hoạt động y tế thực hiện theo quy định của Bộ Khoa học và Công nghệ về quản lý chất thải phóng xạ và nguồn phóng xạ đã qua sử dụng.

**Điều 2. Đối tượng áp dụng**

Thông tư này áp dụng đối với cơ sở y tế bao gồm cơ sở khám bệnh, chữa bệnh có giấy phép hoạt động theo quy định của pháp luật về khám bệnh, chữa bệnh, cơ sở y tế dự phòng, cơ sở đào tạo khối ngành sức khỏe, cơ sở nghiên cứu, xét nghiệm, kiểm nghiệm, kiểm định, thử nghiệm y, dược và có phát sinh chất thải y tế; các cơ quan, tổ chức, cá nhân trong nước và nước ngoài có hoạt động liên quan đến quản lý chất thải y tế trên lãnh thổ Việt Nam.

**Điều 3. Giải thích từ ngữ**

Trong Thông tư này, các từ ngữ dưới đây được hiểu như sau:

1. *Chất thải y tế* là chất thải phát sinh từ hoạt động của cơ sở y tế, bao gồm chất thải y tế nguy hại, chất thải rắn thông thường, khí thải, chất thải lỏng không nguy hại và nước thải y tế.



2. *Chất thải lây nhiễm* là chất thải thấm, dính, chứa máu của cơ thể hoặc chứa vi sinh vật gây bệnh.

3. *Thu gom chất thải y tế* là quá trình tập hợp chất thải y tế từ nơi phát sinh về khu vực lưu giữ chất thải y tế tạm thời hoặc về nơi xử lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế.

## **Chương 2**

### **PHÂN ĐỊNH, PHÂN LOẠI, THU GOM, LƯU GIỮ, GIẢM THIỂU, TÁI CHẾ, BÀN GIAO CHẤT THẢI Y TẾ**

#### **Điều 4. Phân định chất thải y tế**

1. Chất thải y tế nguy hại bao gồm chất thải lây nhiễm và chất thải nguy hại không lây nhiễm.

2. Chất thải lây nhiễm bao gồm:

a) Chất thải lây nhiễm sắc nhọn bao gồm kim tiêm, bơm liên kim tiêm, đầu sắc nhọn của dây truyền, kim chọc dò, kim châm cứu, lưỡi dao mổ, đinh, cưa dùng trong phẫu thuật, các ống tiêm, mảnh thủy tinh vỡ, các vật sắc nhọn khác đã qua sử dụng thải bỏ có dính, chứa máu của cơ thể hoặc chứa vi sinh vật gây bệnh;

b) Chất thải lây nhiễm không sắc nhọn bao gồm bông, băng, gạc, găng tay, các chất thải không sắc nhọn khác thấm, dính, chứa máu của cơ thể, chứa vi sinh vật gây bệnh; vỏ lọ vắc xin thuộc loại vắc xin bất hoạt hoặc giảm độc lực thải bỏ; chất thải lây nhiễm dạng lỏng (bao gồm dịch dẫn lưu sau phẫu thuật, thủ thuật y khoa, dịch thải bỏ chứa máu của cơ thể người hoặc chứa vi sinh vật gây bệnh);

c) Chất thải có nguy cơ lây nhiễm cao bao gồm mẫu bệnh phẩm, dụng cụ đựng, dính mẫu bệnh phẩm, chất thải dính mẫu bệnh phẩm thải bỏ từ các phòng xét nghiệm tương đương an toàn sinh học cấp II trở lên; các chất thải phát sinh từ buồng bệnh cách ly, khu vực điều trị cách ly, khu vực lấy mẫu xét nghiệm người bệnh mắc bệnh truyền nhiễm nguy hiểm nhóm A, nhóm B;

d) Chất thải giải phẫu bao gồm mô, bộ phận cơ thể người thải bỏ, xác động vật thí nghiệm;

3. Chất thải nguy hại không lây nhiễm bao gồm:

a) Hóa chất thải bỏ có thành phần, tính chất nguy hại vượt ngưỡng chất thải nguy hại hoặc có cảnh báo nguy hại trên bao bì từ nhà sản xuất;

b) Dược phẩm thải bỏ thuộc nhóm gây độc tế bào hoặc có cảnh báo nguy hại trên bao bì từ nhà sản xuất;



c) Vỏ chai, lọ đựng thuốc hoặc hoá chất, các dụng cụ dính thuốc hoặc hoá chất thuộc nhóm gây độc tế bào hoặc có cảnh báo nguy hại trên bao bì từ nhà sản xuất;

d) Thiết bị y tế bị vỡ, hỏng, đã qua sử dụng thải bỏ có chứa thủy ngân, cadimi (Cd); pin, ắc quy thải bỏ; vật liệu tráng chì sử dụng trong ngăn tia xạ thải bỏ;

đ) Dung dịch rửa phim X- Quang, nước thải từ thiết bị xét nghiệm, phân tích và các dung dịch thải bỏ có yếu tố nguy hại vượt ngưỡng chất thải nguy hại;

e) Chất thải y tế khác có thành phần, tính chất nguy hại vượt ngưỡng chất thải nguy hại hoặc có cảnh báo nguy hại từ nhà sản xuất.

#### 4. Chất thải rắn thông thường bao gồm:

a) Chất thải rắn sinh hoạt phát sinh từ hoạt động sinh hoạt thường ngày của nhân viên y tế, người bệnh, người nhà người bệnh, học viên, khách đến làm việc và các chất thải ngoại cảnh trong cơ sở y tế (trừ chất thải sinh hoạt phát sinh từ khu vực cách ly, điều trị người mắc bệnh truyền nhiễm nguy hiểm);

b) Hóa chất thải bỏ không có thành phần, tính chất nguy hại vượt ngưỡng chất thải nguy hại;

c) Vỏ chai, lọ đựng thuốc hoặc hoá chất, dụng cụ dính thuốc hoặc hoá chất không thuộc nhóm gây độc tế bào hoặc không có cảnh báo nguy hại trên bao bì từ nhà sản xuất;

d) Vỏ lọ vắc xin thải bỏ không thuộc loại vắc xin bất hoạt hoặc giảm độc lực;

đ) Chất thải sắc nhọn không lây nhiễm, không có thành phần, tính chất nguy hại vượt ngưỡng chất thải nguy hại;

e) Chất thải lây nhiễm sau khi đã xử lý đạt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về môi trường;

g) Bùn thải từ hệ thống xử lý nước thải không có thành phần, tính chất nguy hại vượt ngưỡng chất thải nguy hại; tro, xỉ từ lò đốt chất thải rắn y tế không có thành phần, tính chất nguy hại vượt ngưỡng chất thải nguy hại;

h) Chất thải rắn thông thường khác;

i) Danh mục chất thải rắn thông thường được phép thu gom phục vụ mục đích tái chế quy định tại Phụ lục số 01 ban hành kèm theo Thông tư này.

5. Khí thải bao gồm khí thải phát sinh từ phòng xét nghiệm tác nhân gây bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, lây truyền qua đường không khí; khí thải từ phòng xét nghiệm an toàn sinh học cấp III trở lên.



6. Chất thải lỏng không nguy hại bao gồm dung dịch thuốc, hoá chất thải bỏ không thuộc nhóm gây độc tế bào, không có cảnh báo nguy hại từ nhà sản xuất, không chứa yếu tố nguy hại vượt ngưỡng, không chứa vi sinh vật gây bệnh.

7. Nước thải y tế gồm nước thải phát sinh từ hoạt động chuyên môn trong cơ sở y tế. Trường hợp nước thải sinh hoạt thải chung vào hệ thống thu gom nước thải y tế thì được quản lý như nước thải y tế.

#### **Điều 5. Bao bì, dụng cụ, thiết bị lưu chứa chất thải y tế**

1. Bao bì (túi), dụng cụ (thùng, hộp, can), thiết bị lưu chứa chất thải y tế phải bảo đảm lưu chứa an toàn chất thải, có khả năng chống thấm, chống rò rỉ và có kích thước phù hợp với lượng chất thải lưu chứa. Trên bao bì, dụng cụ, thiết bị lưu chứa chất thải phải có tên loại chất thải lưu chứa và biểu tượng theo quy định tại Phụ lục số 02 ban hành kèm theo Thông tư này.

2. Màu sắc của bao bì, dụng cụ, thiết bị lưu chứa chất thải y tế theo quy định tại các khoản 3, khoản 4, khoản 5, khoản 6 Điều 6 Thông tư này.

3. Dụng cụ, thiết bị lưu chứa chất thải phải có nắp đóng, mở thuận tiện trong quá trình sử dụng, có thể tái sử dụng sau khi đã được làm sạch và khử khuẩn.

4. Dụng cụ đựng chất thải sắc nhọn phải có thành, đáy cứng, kháng thủng, miệng thùng, dụng cụ được thiết kế an toàn tránh tràn đổ, rơi vãi chất thải ra bên ngoài.

5. Dụng cụ, thiết bị lưu chứa chất thải lây nhiễm phải có nắp đậy kín và chống được sự xâm nhập của các loài động vật.

6. Dụng cụ, thiết bị lưu chứa hóa chất thải phải được làm bằng vật liệu không có phản ứng với chất thải lưu chứa và có khả năng chống được sự ăn mòn nếu lưu chứa chất thải có tính ăn mòn.

7. Dụng cụ lưu chứa chất thải nguy hại dạng lỏng phải có nắp đậy kín chống bay hơi, tràn đổ.

8. Bao bì, dụng cụ đựng chất thải y tế xử lý bằng phương pháp đốt thì không sử dụng vật liệu làm bằng nhựa PVC.

#### **Điều 6. Phân loại chất thải y tế**

1. Nguyên tắc phân loại chất thải y tế:

a) Chất thải y tế phải phân loại để quản lý ngay tại nơi phát sinh và tại thời điểm phát sinh;

b) Từng loại chất thải y tế phải phân loại riêng vào trong bao bì, dụng cụ, thiết bị lưu chứa chất thải theo quy định tại Điều 5 Thông tư này. Trường hợp các chất thải y tế nguy hại không có khả năng phản ứng, tương tác với nhau và



áp dụng cùng một phương pháp xử lý có thể được phân loại chung vào cùng một bao bì, dụng cụ, thiết bị lưu chứa (trừ chất thải lây nhiễm sắc nhọn);

c) Trường hợp chất thải lây nhiễm để lẫn với chất thải khác thì hỗn hợp chất thải đó phải thu gom, lưu giữ và xử lý như chất thải lây nhiễm và tiếp tục thực hiện quản lý theo tính chất của chất thải sau xử lý.

## 2. Vị trí đặt bao bì, dụng cụ phân loại chất thải:

a) Tại khoa, phòng, bộ phận: bố trí vị trí phù hợp, an toàn để đặt bao bì, dụng cụ, thiết bị lưu chứa để phân loại chất thải y tế;

b) Tại vị trí đặt bao bì, dụng cụ, thiết bị lưu chứa phải có hướng dẫn cách phân loại và thu gom chất thải.

## 3. Phân loại chất thải lây nhiễm:

a) Chất thải lây nhiễm sắc nhọn: bỏ vào trong thùng hoặc hộp kháng trùng và có màu vàng;

b) Chất thải lây nhiễm không sắc nhọn: bỏ vào trong thùng có lót túi và có màu vàng;

c) Chất thải có nguy cơ lây nhiễm cao: bỏ vào trong thùng có lót túi và có màu vàng;

d) Chất thải giải phẫu: bỏ vào trong 2 lần túi hoặc trong thùng có lót túi và có màu vàng;

đ) Chất thải lây nhiễm dạng lỏng: chứa trong túi kín hoặc dụng cụ lưu chứa chất lỏng và có nắp đậy kín.

## 4. Phân loại chất thải nguy hại không lây nhiễm:

a) Chất thải nguy hại phải được phân loại theo mã chất thải nguy hại để lưu giữ trong các bao bì, dụng cụ, thiết bị lưu chứa phù hợp. Được sử dụng chung bao bì, dụng cụ, thiết bị lưu chứa đối với các chất thải nguy hại có cùng tính chất, không có khả năng gây phản ứng, tương tác lẫn nhau và có khả năng xử lý bằng cùng một phương pháp;

b) Chất thải nguy hại không lây nhiễm ở dạng rắn: đựng trong túi hoặc thùng hoặc thùng có lót túi và có màu đen;

c) Chất thải nguy hại không lây nhiễm dạng lỏng: chứa trong dụng cụ lưu chứa chất lỏng có nắp đậy kín, có mã, tên loại chất thải lưu chứa.

## 5. Phân loại chất thải rắn thông thường:

a) Chất thải rắn thông thường không sử dụng để tái chế: đựng trong túi hoặc thùng hoặc thùng có lót túi và có màu xanh. Chất thải sắc nhọn đựng trong dụng cụ kháng trùng;



b) Chất thải rắn thông thường sử dụng để tái chế: đựng trong túi hoặc thùng hoặc thùng có lót túi và có màu trắng.

6. Phân loại chất thải lỏng không nguy hại: chứa trong dụng cụ đựng chất thải lỏng có nắp đậy kín, có tên loại chất thải lưu chứa.

### **Điều 7. Thu gom chất thải y tế**

#### **1. Thu gom chất thải lây nhiễm:**

a) Cơ sở y tế quy định luồng đi và thời điểm thu gom chất thải lây nhiễm phù hợp để hạn chế ảnh hưởng đến khu vực chăm sóc người bệnh và khu vực khác trong cơ sở y tế;

b) Dụng cụ thu gom chất thải phải bảo đảm kín, không rò rỉ dịch thải trong quá trình thu gom;

c) Chất thải lây nhiễm phải thu gom riêng từ nơi phát sinh về khu vực lưu giữ chất thải tạm thời trong cơ sở y tế. Trước khi thu gom, túi đựng chất thải phải buộc kín miệng, thùng đựng chất thải phải có nắp đậy kín;

d) Chất thải có nguy cơ lây nhiễm cao phải xử lý sơ bộ ở gần nơi phát sinh chất thải để loại bỏ mầm bệnh bằng thiết bị khử khuẩn. Đối với cơ sở y tế không có thiết bị khử khuẩn chất thải, trước khi thu gom túi đựng chất thải có nguy cơ lây nhiễm cao phải buộc kín miệng túi và tiếp tục bỏ vào túi đựng chất thải lây nhiễm thứ 2, buộc kín miệng túi và bỏ vào thùng thu gom chất thải lây nhiễm, bên ngoài thùng có dán nhãn “CHẤT THẢI CÓ NGUY CƠ LÂY NHIỄM CAO”, được thu gom, lưu giữ riêng tại khu lưu giữ chất thải lây nhiễm để xử lý hoặc chuyển cho đơn vị có chức năng xử lý theo quy định;

đ) Chất thải lây nhiễm dạng lỏng thu gom vào hệ thống thu gom nước thải y tế của cơ sở y tế và quản lý theo quy định về quản lý nước thải y tế;

e) Tần suất thu gom chất thải lây nhiễm từ nơi phát sinh về khu lưu giữ chất thải trong khuôn viên cơ sở y tế tối thiểu một lần một ngày. Đối với các cơ sở y tế có lượng chất thải lây nhiễm phát sinh dưới 05 kg trong một ngày, chất thải lây nhiễm được thu gom với tần suất tối thiểu một lần một ngày, chất thải lây nhiễm sắc nhọn được thu gom tối thiểu là một lần một tháng.

#### **2. Thu gom chất thải nguy hại không lây nhiễm:**

a) Chất thải nguy hại không lây nhiễm được thu gom, lưu giữ riêng tại khu lưu giữ chất thải trong cơ sở y tế;

b) Thiết bị y tế bị vỡ, hỏng, đã qua sử dụng thải bỏ có chứa thủy ngân được thu gom và lưu giữ riêng trong các hộp bằng nhựa hoặc các vật liệu phù hợp, bảo đảm không bị rò rỉ, phát tán hơi thủy ngân ra môi trường.



3. Thu gom chất thải rắn thông thường: chất thải rắn thông thường sử dụng để tái chế và chất thải rắn thông thường không sử dụng để tái chế được thu gom riêng.

4. Thu gom chất thải lỏng không nguy hại: chất thải lỏng không nguy hại được thu gom vào hệ thống thu gom nước thải của cơ sở y tế và quản lý theo quy định về quản lý nước thải y tế.

5. Khí thải phải được xử lý, loại bỏ các vi sinh vật gây bệnh trước khi xả ra môi trường xung quanh.

6. Thu gom nước thải:

a) Hệ thống thu gom nước thải phải là hệ thống kín và bảo đảm thu gom toàn bộ lượng nước thải phát sinh trong cơ sở y tế;

b) Nước thải y tế được thu gom và xử lý theo quy định của pháp luật hiện hành về quản lý nước thải.

### **Điều 8. Lưu giữ chất thải y tế**

1. Cơ sở y tế bố trí khu vực lưu giữ chất thải y tế trong khuôn viên cơ sở y tế đáp ứng các yêu cầu sau:

a) Bệnh viện và cơ sở y tế xử lý chất thải y tế theo mô hình cụm phải có khu vực lưu giữ chất thải y tế đáp ứng các yêu cầu kỹ thuật theo quy định tại Mục A Phụ lục số 03 ban hành kèm theo Thông tư này;

b) Cơ sở y tế không thuộc đối tượng quy định tại Điểm a Khoản này lưu giữ chất thải y tế đáp ứng các yêu cầu kỹ thuật theo quy định tại Mục B Phụ lục số 03 ban hành kèm theo Thông tư này.

2. Từng loại chất thải phải được lưu giữ riêng tại khu vực lưu giữ chất thải tạm thời trong khuôn viên cơ sở y tế, trừ trường hợp các loại chất thải này có cùng tính chất, không có khả năng gây phản ứng, tương tác lẫn nhau và có khả năng xử lý bằng cùng một phương pháp.

3. Thời gian lưu giữ chất thải lây nhiễm:

a) Đối với chất thải lây nhiễm phát sinh tại cơ sở y tế, thời gian lưu giữ không quá 02 ngày trong điều kiện bình thường. Trường hợp lưu giữ chất thải lây nhiễm trong thiết bị bảo quản lạnh ở nhiệt độ dưới 8°C, thời gian lưu giữ tối đa không quá 07 ngày;

b) Đối với chất thải lây nhiễm được vận chuyển từ cơ sở y tế khác về để xử lý theo mô hình cụm hoặc xử lý tập trung, phải xử lý ngay trong ngày. Trường hợp chưa xử lý ngay trong ngày, phải lưu giữ ở nhiệt độ dưới 20°C và thời gian lưu giữ tối đa không quá 02 ngày;



c) Đối với cơ sở y tế có lượng chất thải lây nhiễm phát sinh dưới 05 kg/ngày, thời gian lưu giữ không quá 03 ngày trong điều kiện bình thường và phải được lưu giữ trong các bao bì được buộc kín hoặc thiết bị lưu chứa được đậy nắp kín.

4. Thời gian lưu giữ chất thải nguy hại không lây nhiễm: thời gian lưu giữ không quá 01 năm kể từ thời điểm phát sinh chất thải. Trường hợp lưu giữ quá 01 năm do chưa có phương án vận chuyển, xử lý hoặc chưa tìm được cơ sở xử lý chất thải nguy hại phù hợp thì cơ sở y tế phải báo cáo bằng văn bản riêng hoặc kết hợp trong báo cáo kết quả quản lý chất thải y tế hằng năm của đơn vị cho cơ quan có thẩm quyền theo quy định tại Điều 13 Thông tư này và cơ quan có thẩm quyền khác theo quy định của pháp luật.

5. Đối với các cơ sở y tế ở vùng sâu, vùng xa, miền núi, hải đảo khó khăn, không có biện pháp xử lý phù hợp thì chất thải lây nhiễm sắc nhọn được lưu giữ an toàn trong bể bê tông trong khuôn viên cơ sở y tế sau khi đã xử lý tiệt khuẩn chất thải và phải có biển cảnh báo tại khu vực lưu giữ chất thải.

#### **Điều 9. Giảm thiểu chất thải y tế**

Cơ sở y tế phải thực hiện các biện pháp giảm thiểu phát sinh chất thải y tế sau đây:

1. Mua sắm, lắp đặt, sử dụng vật tư, thiết bị, dụng cụ, thuốc, hóa chất và các nguyên, vật liệu phù hợp với nhu cầu sử dụng.

2. Đổi mới thiết bị, quy trình trong hoạt động chuyên môn y tế và các biện pháp khác để giảm thiểu phát sinh chất thải y tế.

3. Có biện pháp, lộ trình và thực hiện hạn chế sử dụng sản phẩm nhựa sử dụng một lần, túi ni lông khó phân huỷ nhằm giảm thiểu phát sinh chất thải nhựa.

4. Phân loại chất thải nhựa để tái chế hoặc xử lý theo quy định của pháp luật.

#### **Điều 10. Quản lý chất thải rắn thông thường sử dụng để tái chế**

1. Trên cơ sở Danh mục chất thải rắn thông thường được phép thu gom phục vụ mục đích tái chế quy định tại Phụ lục số 01 ban hành kèm theo Thông tư này, cơ sở y tế ban hành danh mục chất thải rắn thông thường được phép thu gom phục vụ mục đích tái chế phù hợp với tình hình phát sinh chất thải của đơn vị.

2. Chất thải lây nhiễm sau khi xử lý đạt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về môi trường được quản lý như chất thải rắn thông thường và được phép thu gom



để tái chế. Khi chuyển giao chất thải, cơ sở y tế phải bảo đảm bao bì lưu chứa chất thải được buộc kín, bên ngoài bao bì có biểu tượng chất thải tái chế theo quy định tại Phụ lục số 02 ban hành kèm theo Thông tư này và ghi đầy đủ thông tin vào Sổ bàn giao chất thải đã khử khuẩn đạt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về môi trường phục vụ mục đích tái chế theo mẫu quy định tại Phụ lục số 04 ban hành kèm theo Thông tư này.

3. Chất thải nhựa được phân loại, thu gom để phục vụ mục đích tái chế hoặc xử lý theo quy định của pháp luật.

**Điều 11. Quản lý, vận hành công trình, thiết bị, hệ thống xử lý chất thải y tế**

1. Cơ sở y tế tự xử lý chất thải y tế hoặc xử lý theo mô hình cụm phải vận hành thường xuyên công trình, thiết bị, hệ thống xử lý chất thải y tế theo hướng dẫn của nhà sản xuất, bảo đảm xử lý chất thải đạt quy chuẩn kỹ thuật về môi trường và tuân thủ các quy định của pháp luật về giám sát, quan trắc môi trường.

2. Công trình, thiết bị, hệ thống xử lý chất thải y tế phải được bảo trì, bảo dưỡng định kỳ theo hướng dẫn của nhà sản xuất và ghi đầy đủ thông tin vào Sổ nhật ký vận hành công trình, thiết bị, hệ thống xử lý chất thải y tế theo quy định tại Phụ lục số 05 ban hành kèm theo Thông tư này.

**Điều 12. Chuyển giao chất thải y tế**

1. Cơ sở y tế không tự xử lý chất thải y tế phải thực hiện chuyển giao chất thải y tế theo các quy định sau đây:

a) Chất thải y tế nguy hại phải được chuyển giao cho đơn vị có giấy phép phù hợp theo quy định của pháp luật. Số lượng chất thải sau mỗi lần chuyển giao phải được ghi đầy đủ trong sổ giao nhận chất thải theo mẫu quy định tại Phụ lục số 06 ban hành kèm theo Thông tư này và sử dụng chứng từ chất thải nguy hại theo quy định;

b) Chất thải rắn thông thường được chuyển giao cho đơn vị có chức năng phù hợp để vận chuyển, xử lý theo quy định của pháp luật hiện hành.

3. Đơn vị nhận chuyển giao chất thải y tế phải thực hiện vận chuyển theo quy định, không làm thất thoát chất thải y tế ra bên ngoài. Chất thải y tế phải được xử lý đạt quy chuẩn kỹ thuật về môi trường.

4. Cơ sở y tế thực hiện xử lý chất thải y tế nguy hại theo mô hình cụm do Ủy ban nhân tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương phê duyệt; việc bàn giao chất thải y tế để xử lý theo mô hình cụm phải được ghi vào Sổ giao nhận chất thải y tế nguy hại theo mẫu quy định tại Phụ lục số 06 ban hành kèm theo Thông tư này.



### Chương 3

## CHẾ ĐỘ BÁO CÁO VÀ HỒ SƠ QUẢN LÝ CHẤT THẢI Y TẾ

### Điều 13. Chế độ báo cáo

1. Tần suất báo cáo: Báo cáo kết quả quản lý chất thải y tế được lập 01 năm một lần, tính từ ngày 15 tháng 12 năm trước kỳ báo cáo đến ngày 14 tháng 12 của năm thực hiện báo cáo.

2. Hình thức báo cáo: Báo cáo kết quả quản lý chất thải y tế được gửi bằng văn bản giấy hoặc bản điện tử hoặc qua phần mềm báo cáo.

3. Nội dung và trình tự báo cáo:

a) Cơ sở y tế báo cáo kết quả quản lý chất thải y tế của cơ sở theo mẫu quy định tại Mục A Phụ lục số 07 ban hành kèm theo Thông tư này, gửi về Sở Y tế tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương (sau đây gọi tắt là Sở Y tế) trên địa bàn hoặc Bộ Y tế (Cục Quản lý môi trường y tế) đối với các cơ sở y tế trực thuộc Bộ Y tế trước ngày 16 tháng 12 của kỳ báo cáo;

b) Sở Y tế tổng hợp, báo cáo kết quả quản lý chất thải y tế trên địa bàn theo mẫu quy định tại Mục B Phụ lục số 07 ban hành kèm theo Thông tư này, gửi về Bộ Y tế (Cục Quản lý môi trường y tế) trước ngày 20 tháng 12 của kỳ báo cáo.

### Điều 14. Hồ sơ quản lý chất thải y tế

Cơ sở y tế phải lưu giữ tại cơ sở các hồ sơ sau đây:

1. Giấy phép môi trường và các văn bản, hồ sơ, tài liệu có liên quan về môi trường theo quy định (đối với cơ sở y tế thuộc đối tượng phải xin cấp giấy phép môi trường).

2. Sổ giao nhận chất thải y tế; chứng từ chất thải nguy hại (nếu có).

3. Sổ nhật ký vận hành công trình, thiết bị, hệ thống xử lý chất thải y tế (đối với cơ sở y tế tự xử lý chất thải).

4. Các biên bản thanh tra, kiểm tra liên quan (nếu có).

5. Báo cáo kết quả quản lý chất thải y tế định kỳ hằng năm; báo cáo kết quả quan trắc chất thải định kỳ (nếu có).

6. Các tài liệu liên quan khác.

### Chương 4

## ĐIỀU KHOẢN THI HÀNH

### Điều 15. Trách nhiệm thi hành

1. Trách nhiệm của Cục Quản lý môi trường y tế

a) Chỉ đạo, hướng dẫn, kiểm tra việc thực hiện các quy định của Thông tư này;



b) Ban hành các hướng dẫn chuyên môn kỹ thuật về quản lý chất thải y tế trong phạm vi khuôn viên cơ sở y tế;

c) Đào tạo, tập huấn, phổ biến, truyền thông các quy định về quản lý chất thải y tế cho Sở Y tế, các cơ sở y tế thuộc thẩm quyền quản lý.

## 2. Trách nhiệm của Sở Y tế

a) Chỉ đạo, hướng dẫn, kiểm tra việc thực hiện các quy định của Thông tư này trên địa bàn quản lý;

b) Tổ chức tập huấn, phổ biến, truyền thông các quy định về quản lý chất thải y tế của Thông tư này cho các cơ sở y tế thuộc phạm vi quản lý;

c) Chỉ đạo các cơ sở y tế trực thuộc lập kế hoạch quản lý chất thải y tế;

d) Phối hợp với Sở Tài chính đề xuất phân bổ kinh phí đầu tư, nâng cấp, vận hành công trình, thiết bị, hệ thống xử lý chất thải y tế đối với các cơ sở y tế thuộc thẩm quyền quản lý;

đ) Báo cáo kết quả quản lý chất thải y tế theo quy định tại Điều 13 Thông tư này.

## 3. Trách nhiệm của cơ sở y tế

a) Thực hiện quản lý chất thải y tế theo quy định tại Thông tư này và các văn bản pháp luật khác có liên quan;

b) Phân công lãnh đạo cơ sở y tế phụ trách về công tác quản lý chất thải y tế; bố trí cán bộ chuyên trách về công tác quản lý chất thải y tế; giao nhiệm vụ cho khoa Kiểm soát nhiễm khuẩn hoặc khoa, phòng, bộ phận phụ trách về công tác quản lý chất thải y tế; bố trí người của cơ sở y tế hoặc phối hợp với đơn vị bên ngoài để thực hiện việc vận hành công trình, thiết bị, hệ thống xử lý chất thải y tế phù hợp với yêu cầu nhiệm vụ (đối với cơ sở y tế tự xử lý chất thải);

c) Xây dựng kế hoạch quản lý chất thải y tế hoặc tích hợp trong kế hoạch hoạt động chung hằng năm của cơ sở y tế; bố trí kinh phí để thực hiện việc quản lý chất thải y tế;

d) Thực hiện việc xác định các loại chất thải phát sinh từ hoạt động của cơ sở y tế để áp dụng biện pháp quản lý phù hợp theo quy định của Thông tư này;

đ) Thực hiện yêu cầu về kế hoạch, biện pháp, trang thiết bị phòng ngừa, ứng phó sự cố môi trường do chất thải theo quy định của pháp luật (trong đó bao gồm cả phương án xử lý trong trường hợp lượng chất thải y tế nguy hại gia tăng bất thường do dịch bệnh hoặc lý do bất khả kháng);

e) Tổ chức đào tạo, tập huấn, truyền thông, phổ biến cho viên chức, người lao động và các đối tượng có liên quan các quy định về quản lý chất thải y tế;

g) Báo cáo kết quả quản lý chất thải y tế theo quy định tại Điều 13 Thông tư này.

## **Điều 16. Điều khoản thi hành**

### **1. Hiệu lực thi hành**

- a) Thông tư này có hiệu lực thi hành kể từ ngày 10 tháng 01 năm 2022;
- b) Thông tư liên tịch số 58/2015/TTLT-BYT-BTNMT ngày 31 tháng 12 năm 2015 của Bộ Y tế và Bộ Tài nguyên và Môi trường quy định về quản lý chất thải y tế hết hiệu lực kể từ ngày Thông tư này có hiệu lực thi hành.

### **2. Tổ chức thực hiện**

a) Cục trưởng Cục Quản lý môi trường y tế, Chánh Văn phòng Bộ Y tế, Chánh Thanh tra Bộ Y tế, Vụ trưởng, Cục trưởng, Tổng Cục trưởng các Vụ, Cục, Tổng Cục thuộc Bộ Y tế và các cơ quan, tổ chức, cá nhân có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Thông tư này;

b) Trong quá trình thực hiện, nếu có khó khăn, vướng mắc, đề nghị phản ánh về Bộ Y tế (Cục Quản lý môi trường y tế) để xem xét, giải quyết. / *salu*

#### **Nơi nhận:**

- Ủy ban Xã hội của Quốc hội (để giám sát);
- Văn phòng Chính phủ (Phòng Công báo, Cổng thông tin điện tử Chính phủ);
- Bộ trưởng Nguyễn Thanh Long (để báo cáo);
- Các Thứ trưởng Bộ Y tế;
- Các Bộ, cơ quan ngang Bộ, cơ quan thuộc Chính phủ;
- Bộ Tư pháp (Cục Kiểm tra văn bản QPPL);
- Các đơn vị thuộc, trực thuộc Bộ Y tế;
- UBND các tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương;
- Sở Y tế, Sở TN&MT các tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương;
- Cổng Thông tin điện tử Bộ Y tế;
- Lưu: VT, PC, MT.

**KT. BỘ TRƯỞNG  
THỨ TRƯỞNG**



**Nguyễn Trường Sơn**

*12* *thư/k* *salu*



## Phụ lục số 01

**DANH MỤC CHẤT THẢI RẮN THÔNG THƯỜNG  
ĐƯỢC PHÉP THU GOM PHỤC VỤ MỤC ĐÍCH TÁI CHẾ**

*(Ban hành kèm theo Thông tư số 20/2021/TT-BYT ngày 26/11/2021 của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

| TT         | Loại chất thải                                                                                                                                                    | Yêu cầu                                                                                                                                                                               |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>I</b>   | <b>Chất thải là vật liệu giấy</b>                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                       |
| 1          | Giấy, báo, bì, thùng các-tông, vỏ hộp thuốc và các vật liệu giấy                                                                                                  | Không thấm, dính, chứa máu của cơ thể, vi sinh vật gây bệnh hoặc không có yếu tố nguy hại khác vượt ngưỡng chất thải nguy hại                                                         |
| <b>II</b>  | <b>Chất thải là vật liệu nhựa</b>                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                       |
| 1          | Các chai nhựa đựng thuốc, hóa chất không thuộc nhóm gây độc tế bào hoặc không có cảnh báo nguy hại từ nhà sản xuất.                                               | Không thấm, dính, chứa máu của cơ thể, không chứa vi sinh vật gây bệnh                                                                                                                |
| 2          | Các chai nước giải khát bằng nhựa và các sản phẩm bằng nhựa khác sử dụng trong hoạt động sinh hoạt thường ngày                                                    | Không thải ra từ khu vực cách ly, điều trị người mắc bệnh truyền nhiễm nguy hiểm nhóm A, nhóm B                                                                                       |
| 3          | Các chai dịch truyền nhựa, dây truyền dịch, bơm tiêm nhựa (không bao gồm đầu sắc nhọn), vật liệu nhựa khác                                                        | Không thấm, dính, chứa máu của cơ thể, không chứa vi sinh vật gây bệnh, không chứa yếu tố nguy hại                                                                                    |
| 4          | Các chai dịch truyền nhựa, dây truyền dịch, bơm tiêm nhựa (không bao gồm đầu sắc nhọn), vật liệu nhựa khác đã xử lý đạt quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về môi trường | Không chứa yếu tố nguy hại                                                                                                                                                            |
| <b>III</b> | <b>Chất thải là vật liệu kim loại</b>                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                       |
| 1          | Các chai, lon nước giải khát và các vật liệu kim loại khác sử dụng trong hoạt động sinh hoạt thường ngày                                                          | Không thải ra từ khu vực cách ly, điều trị người mắc bệnh truyền nhiễm nguy hiểm nhóm A, nhóm B                                                                                       |
| <b>IV</b>  | <b>Chất thải là vật liệu thủy tinh</b>                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                       |
|            | Các vỏ chai, lọ, lọ thuốc thủy tinh thải bỏ                                                                                                                       | Không dính, chứa các loại thuốc, hóa chất thuộc nhóm gây độc tế bào hoặc có cảnh báo nguy hại từ nhà sản xuất; không thấm, dính, chứa máu của cơ thể, không chứa vi sinh vật gây bệnh |

## Phụ lục số 02

**BIỂU TƯỢNG TRÊN BAO BÌ, DỤNG CỤ, THIẾT BỊ LƯU CHỨA CHẤT THẢI Y TẾ**

(Ban hành kèm theo Thông tư số 20/2021/TT-BYT ngày 26/4/2021 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

|                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.<br><br>BIỂU TƯỢNG<br>CHẤT THẢI TÁI CHẾ           | 2.<br><br>BIỂU TƯỢNG<br>CẢNH BÁO CHẤT THẢI LÂY NHIỄM                                                       |
| 3.<br><br>BIỂU TƯỢNG<br>CẢNH BÁO CHẤT THẢI DỄ CHÁY | 4.<br><br>BIỂU TƯỢNG<br>CẢNH BÁO CHẤT THẢI NGUY HẠI<br>KHÔNG LÂY NHIỄM HOẶC CẢNH BÁO CHUNG VỀ<br>NGUY HẠI |

*Ghi chú:*

Trình bày, thiết kế và màu sắc của dấu hiệu cảnh báo chất thải y tế nguy hại áp dụng theo các quy định trong TCVN 5053 : 1990



**Phụ lục số 03****YÊU CẦU KỸ THUẬT KHU LƯU GIỮ CHẤT THẢI TẠI CƠ SỞ Y TẾ**

(Ban hành kèm theo Thông tư số 20/2021/TT-BYT ngày 26/11/2021 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

---

**A. Đối với hình thức tổ chức cơ sở khám, chữa bệnh là bệnh viện và cơ sở y tế thực hiện xử lý chất thải y tế theo mô hình cụm cơ sở y tế:**

1. Khu vực lưu giữ chất thải có biển cảnh báo; có mái che cho khu vực lưu giữ; nền đảm bảo không bị ngập lụt, tránh được nước mưa chảy tràn từ bên ngoài vào, không bị chảy tràn chất lỏng ra bên ngoài khi có sự cố rò rỉ, đổ tràn; có hệ thống thu gom nước thải;

2. Trong khu lưu giữ phải phân chia các ô hoặc có dụng cụ, thiết bị lưu giữ riêng cho từng loại chất thải hoặc nhóm chất thải có cùng tính chất và có tên loại chất thải, mã số chất thải nguy hại (CTNH) (đối với chất thải y tế nguy hại), biểu tượng theo quy định tại Phụ lục số 02 ban hành kèm theo Thông tư với kích thước phù hợp, dễ nhận biết. Các chất thải khác nhau nhưng cùng áp dụng một phương pháp xử lý được lưu giữ trong cùng một dụng cụ, thiết bị lưu chứa.

3. Có vật liệu hấp thụ (như cát khô hoặc mùn cưa) và xẻng để sử dụng trong trường hợp rò rỉ, đổ tràn chất thải y tế nguy hại ở dạng lỏng.

4. Có thiết bị phòng cháy chữa cháy theo hướng dẫn của cơ quan có thẩm quyền về phòng cháy chữa cháy.

5. Dụng cụ, thiết bị lưu chứa chất thải phải thường xuyên vệ sinh sạch sẽ và khử khuẩn.

6. Có vòi nước, dung dịch vệ sinh, khử khuẩn.

**B. Đối với các cơ sở y tế khác**

1. Vị trí lưu giữ chất thải có biển cảnh báo; có thùng, dụng cụ, thiết bị lưu giữ riêng có nắp đậy kín cho từng loại chất thải phát sinh hoặc nhóm chất thải có cùng tính chất và có tên loại chất thải, mã số CTNH (đối với chất thải y tế nguy hại), biểu tượng theo quy định tại Phụ lục số 02 ban hành kèm theo Thông tư với kích thước phù hợp, dễ nhận biết.

2. Các chất thải khác nhau nhưng cùng áp dụng một phương pháp xử lý được lưu giữ trong cùng một dụng cụ, thiết bị lưu chứa.

3. Dụng cụ, thiết bị lưu chứa chất thải phải thường xuyên vệ sinh sạch sẽ và khử khuẩn.

**Phụ lục số 04****MẪU SỔ BÀN GIAO CHẤT THẢI ĐÃ KHỬ KHUẨN ĐẠT QUY CHUẨN KỸ THUẬT  
QUỐC GIA VỀ MÔI TRƯỜNG PHỤC VỤ MỤC ĐÍCH TÁI CHẾ**

(Ban hành kèm theo Thông tư số 20/2021/TT-BYT ngày 26/11/2021 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

**I. Bìa sổ**

TÊN CƠ QUAN CHỦ QUẢN  
TÊN CƠ SỞ Y TẾ

**SỔ BÀN GIAO CHẤT THẢI ĐÃ KHỬ KHUẨN ĐẠT QUY CHUẨN KỸ THUẬT  
QUỐC GIA VỀ MÔI TRƯỜNG PHỤC VỤ MỤC ĐÍCH TÁI CHẾ**

....., ngày.....tháng.....năm.....

## II. Nội dung ghi trong Sổ

| Ngày, tháng, năm bàn giao chất thải | Lượng chất thải bàn giao (kg) |          |                                   |       | Tổng số (kg) | Người giao (ký ghi rõ họ và tên) | Người nhận (ký ghi rõ họ và tên) |
|-------------------------------------|-------------------------------|----------|-----------------------------------|-------|--------------|----------------------------------|----------------------------------|
|                                     | Đơn vị tính                   | Số lượng | Trọng lượng/túi, hộp, thùng, kiện | Mê số |              |                                  |                                  |
| (1)                                 | (2)                           | (3)      | (4)                               | (5)   | (6)=(3)x(4)  | (7)                              | (8)                              |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
|                                     |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |
| Cộng                                |                               |          |                                   |       |              |                                  |                                  |

### Ghi chú:

(2) Đơn vị tính là túi hoặc hộp hoặc thùng hoặc kiện.

*VB* *Nguy* *Galac*



## Phụ lục số 05

**MẪU SỔ NHẬT KÝ VẬN HÀNH CÔNG TRÌNH, THIẾT BỊ, HỆ THỐNG  
XỬ LÝ CHẤT THẢI Y TẾ**

*(Ban hành kèm theo Thông tư số 20/2021/TT-BYT ngày 26/11/2021 của Bộ trưởng Bộ Y tế)*

**I. Nhật ký vận hành lò đốt**

| TT | Thời điểm bắt đầu<br>(giờ/ngày/<br>tháng/năm) | Ghi chép về nhiệt độ<br>và các bất thường<br>trong quá trình đốt | Thời điểm kết thúc<br>(giờ/ngày/<br>tháng/năm) | Lượng chất thải đốt<br>(kg) | Nhận xét về quá trình<br>đốt và kết quả đốt | Người vận hành |
|----|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------|----------------|
| 1  | Mẻ số...                                      |                                                                  |                                                |                             |                                             |                |
| 2  | Mẻ số...                                      |                                                                  |                                                |                             |                                             |                |
|    | Cộng ngày                                     |                                                                  |                                                |                             |                                             |                |

**II. Nhật ký vận hành thiết bị xử lý chất thải rắn lây nhiễm bằng công nghệ không đốt**

| Ngày tháng năm | Thông tin | Giờ khử khuẩn | Chế độ khử khuẩn |                  | Số lượng chất thải/mẻ<br>(kg) | Cán bộ vận hành<br>(Ký, ghi rõ họ tên) |
|----------------|-----------|---------------|------------------|------------------|-------------------------------|----------------------------------------|
|                |           |               | Nhiệt độ (°C)    | Thời gian (phút) |                               |                                        |
|                |           | (3)           | (4)              | (5)              | (6)                           | (7)                                    |
|                | Mẻ số...  |               |                  |                  |                               |                                        |
|                | Mẻ số...  |               |                  |                  |                               |                                        |
|                | Cộng ngày |               |                  |                  |                               |                                        |
|                |           |               |                  |                  |                               |                                        |

**III. Nhật ký vận hành hệ thống xử lý nước thải**

| Ngày tháng năm | Thời điểm bắt đầu vận hành hệ thống | Ghi chép tình trạng hoạt động của hệ thống và các dấu hiệu bất thường | Thời điểm ngừng vận hành | Khử trùng nước thải | Bảo trì, bảo dưỡng/sửa chữa, thay thế | Lưu lượng nước thải xử lý | Người vận hành |
|----------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------------------------|---------------------------|----------------|
| (1)            | (2)                                 | (3)                                                                   | (4)                      | (5)                 | (6)                                   | (7)                       | (8)            |
|                |                                     |                                                                       |                          |                     |                                       |                           |                |

**Ghi chú:**

- Cột (2), (4) Không cần ghi nếu là hệ thống vận hành tự động.
- Cột (5): Nếu áp dụng khử trùng bằng hóa chất thì cần ghi rõ loại và lượng hóa chất sử dụng. Nếu bằng phương pháp khác thì ghi tên phương pháp áp dụng.
- Cột (6): Ghi rõ bảo trì bảo dưỡng hoặc sửa chữa thay thế bộ phận nào; cá nhân, đơn vị thực hiện.
- Trường hợp cơ sở có từ 2 công trình, thiết bị, hệ thống xử lý chất thải y tế trở lên thì mỗi công trình, thiết bị, hệ thống xử lý chất thải y tế lập một sổ.



Phụ lục số 06  
**MẪU SỔ GIAO NHẬN CHẤT THẢI Y TẾ NGUY HẠI**

(Ban hành kèm theo Thông tư số 20 /2021/TT-BYT ngày 26 /4/2021 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

**I. Mẫu bìa sổ**

TÊN CƠ QUAN CHỦ QUẢN  
TÊN CƠ SỞ Y TẾ

**SỔ GIAO NHẬN CHẤT THẢI Y TẾ NGUY HẠI**

....., ngày.....tháng.....năm.....



## II. Nội dung ghi trong sổ

| Ngày<br>tháng năm | Lượng chất thải bàn giao (Kg) |                      |                                |              |                                       |                     |     | Người<br>giao chất<br>thải<br><br>(Ký ghi rõ<br>họ và tên) | Người<br>nhận chất<br>thải (Ký<br>ghi rõ họ<br>và tên) |            |
|-------------------|-------------------------------|----------------------|--------------------------------|--------------|---------------------------------------|---------------------|-----|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|------------|
|                   | Chất thải lây nhiễm           |                      |                                |              | Chất thải nguy hại<br>không lây nhiễm |                     |     |                                                            |                                                        | Tổng<br>số |
|                   | Sắc<br>nhộn                   | Không<br>sắc<br>nhộn | Nguy<br>cơ lây<br>nhiễm<br>cao | Giải<br>phẫu | Chất<br>thải<br>...                   | Chất<br>thải<br>... | ... |                                                            |                                                        |            |
|                   |                               |                      |                                |              |                                       |                     |     |                                                            |                                                        |            |
| ...               |                               |                      |                                |              |                                       |                     |     |                                                            |                                                        |            |
| Cộng<br>tháng.... |                               |                      |                                |              |                                       |                     |     |                                                            |                                                        |            |

### Ghi chú:

- Sổ giao nhận chất thải này được sử dụng thay thế cho chứng từ chất thải nguy hại đối với cơ sở y tế xử lý chất thải y tế theo mô hình cụm khi bàn giao chất thải; Đối với cơ sở y tế thuê đơn vị có giấy phép xử lý CTNH phù hợp để xử lý chất thải theo mô hình tập trung được sử dụng để theo dõi lượng chất thải bàn giao trong tháng làm cơ sở để xuất chứng từ chất thải nguy hại hàng tháng;
- Sổ bàn giao chất thải được Chủ nguồn thải lập thành 02 Sổ, Chủ nguồn thải giữ 01 Sổ và Cơ sở xử lý chất thải giữ 01 Sổ. Mỗi lần giao nhận chất thải giữa hai bên phải điền đầy đủ thông tin và ký nhận giữa hai bên vào 02 sổ để theo dõi, đối chiếu và quản lý;
- Không được tẩy xóa, sửa chữa các thông tin trong sổ.

*(Chữ ký và dấu)*

## Phụ lục số 07

**MẪU BÁO CÁO KẾT QUẢ QUẢN LÝ CHẤT THẢI Y TẾ**

(Ban hành kèm theo Thông tư số 20 /2021/TT-BYT ngày 26 /11/2021 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

**A. Mẫu báo cáo kết quả quản lý chất thải y tế định kỳ của cơ sở y tế**ĐƠN VỊ CHỦ QUẢN.....  
TÊN CƠ SỞ Y TẾ.....CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM  
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Số: ...../.....

....., ngày ... tháng ... năm .....

**BÁO CÁO KẾT QUẢ QUẢN LÝ CHẤT THẢI Y TẾ**

(Kỳ báo cáo: từ ngày 15/12/20..... đến ngày 14/12/20.....)

Kính gửi: Sở Y tế...

**Phần 1. Thông tin chung**

1.1. Tên cơ sở y tế (Chủ nguồn thải): .....

Địa chỉ:

Điện thoại:

Fax:

Mã số quản lý chất thải nguy hại (số Chứng minh nhân dân/căn cước công dân đối với cá nhân):

Tên lãnh đạo đơn vị phụ trách : .....; chức vụ: .....

Tên khoa/phòng/bộ phận đầu mối: .....

Tên người tổng hợp báo cáo: .....

Điện thoại:.....; Email: .....

1.2. Cơ sở phát sinh chất thải nguy hại (áp dụng đối với cơ sở y tế có từ 2 cơ sở trực thuộc trở lên và trình bày từng cơ sở)

Tên cơ sở (nếu có)

Địa chỉ:

Điện thoại:

Fax:

Email:

1.3. Số giường bệnh kế hoạch (nếu có): .....; Số giường bệnh thực kê: .....

1.4. Tổng số cán bộ, nhân viên của cơ sở y tế: .....; Số học sinh, sinh viên thực tập: .....

1.5. Tổng số lượt người đến khám, chữa bệnh: .....; Trong đó: ngoại trú:....., nội trú: .....

1.6. Tổng lượng nước sử dụng trong kỳ báo cáo: ..... m<sup>3</sup>.**Phần 2. Kết quả quản lý chất thải y tế tại cơ sở y tế trong kỳ báo cáo**

2.1. Tình hình chung về quản lý chất thải y tế tại cơ sở y tế trong kỳ báo cáo:

2.1.1. Kết quả đào tạo, tập huấn, truyền thông, phổ biến pháp luật về quản lý chất thải y tế

a) Hoạt động đào tạo, tập huấn

| TT | Nhóm đối tượng được đào tạo, tập huấn            | Số người được đào tạo | Lượt đào tạo |
|----|--------------------------------------------------|-----------------------|--------------|
| 1  | Cán bộ lãnh đạo/quản lý                          |                       |              |
| 2  | Cán bộ chuyên trách quản lý chất thải y tế       |                       |              |
| 3  | Nhân viên y tế                                   |                       |              |
| 4  | Nhân viên thu gom, lưu giữ chất thải y tế        |                       |              |
| 5  | Nhân viên vận hành hệ thống xử lý chất thải y tế |                       |              |

Nhận xét, đánh giá:



b) Kết quả hoạt động truyền thông và phổ biến quy định về quản lý chất thải y tế

| TT | Nhóm đối tượng truyền thông, phổ biến pháp luật | Nội dung | Hình thức |
|----|-------------------------------------------------|----------|-----------|
| 1  |                                                 |          |           |
| 2  |                                                 |          |           |

Nhận xét, đánh giá:

2.1.2. Kết quả hoạt động thanh, kiểm tra

a) Hoạt động thanh tra, kiểm tra của cơ quan cấp trên

- Số lần được thanh tra, kiểm tra trong kỳ báo cáo: ..... lần.

- Kết quả thanh tra, kiểm tra và xử lý vi phạm hành chính:

| TT  | Tên cơ quan thực hiện thanh tra, kiểm tra | Nội dung vi phạm (nếu có, ghi rõ) | Kết quả khắc phục vi phạm |                |
|-----|-------------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|----------------|
|     |                                           |                                   | Đã khắc phục              | Chưa khắc phục |
| I   | Thanh tra                                 |                                   |                           |                |
|     | ...                                       |                                   |                           |                |
| II  | Kiểm tra                                  |                                   |                           |                |
|     | ...                                       |                                   |                           |                |
| III | Xử lý vi phạm hành chính                  |                                   |                           |                |
|     | ...                                       |                                   |                           |                |

b) Hoạt động kiểm tra, giám sát của đơn vị

| TT  | Tên đơn vị, bộ phận thực hiện kiểm tra, giám sát | Nội dung vi phạm (nếu có, ghi rõ) | Kết quả khắc phục vi phạm |                |
|-----|--------------------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|----------------|
|     |                                                  |                                   | Đã khắc phục              | Chưa khắc phục |
| I   | Kiểm tra, giám sát                               |                                   |                           |                |
|     | ...                                              |                                   |                           |                |
| III | Xử lý vi phạm                                    |                                   |                           |                |
|     | ...                                              |                                   |                           |                |

Nhận xét, đánh giá:

2.1.3. Kết quả quan trắc môi trường

| TT | Nội dung quan trắc | Số lần quan trắc thực tế/quy định | Chỉ tiêu không đạt | Bản scan các Kết quả quan trắc kèm theo |
|----|--------------------|-----------------------------------|--------------------|-----------------------------------------|
|    | ...                |                                   |                    |                                         |
|    |                    |                                   |                    |                                         |

Nhận xét, đánh giá:

2.2. Thống kê chất thải y tế phát sinh và được xử lý tại cơ sở y tế trong kỳ báo cáo:

(Trường hợp có các cơ sở trực thuộc, thì ngoài thống kê chất thải y tế của cơ sở, cần thống kê lần lượt đối với từng cơ sở y tế trực thuộc theo bảng dưới đây)

| TT        | Loại chất thải y tế                                                                                                                            | Mã chất thải nguy hại | Đơn vị tính | Số lượng chất thải phát sinh | Số lượng chất thải được xử lý đạt quy chuẩn kỹ thuật | Xử lý chất thải y tế              |                        |                         |                                             |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------|------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------|-------------------------|---------------------------------------------|
|           |                                                                                                                                                |                       |             |                              |                                                      | Chuyển giao cho đơn vị khác xử lý |                        | Tự xử lý tại cơ sở y tế |                                             |
|           |                                                                                                                                                |                       |             |                              |                                                      | Số lượng                          | Tên đơn vị chuyển giao | Số lượng                | Hình thức/ Phương pháp xử lý <sup>(*)</sup> |
| <b>I</b>  | <b>Tổng lượng chất thải y tế nguy hại</b>                                                                                                      |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 1         | Tổng lượng chất thải lây nhiễm:                                                                                                                |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 1.1       | Chất thải lây nhiễm sắc nhọn                                                                                                                   |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 1.2       | Chất thải lây nhiễm không sắc nhọn                                                                                                             |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 1.3       | Chất thải có nguy cơ lây nhiễm cao                                                                                                             |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 1.4       | Chất thải giải phẫu                                                                                                                            |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 2         | Tổng lượng chất thải nguy hại không lây nhiễm, gồm:                                                                                            |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 2.1       | Hóa chất thải bỏ bao gồm hoặc có các thành phần nguy hại vượt ngưỡng                                                                           |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 2.2       | Dược phẩm thải bỏ thuộc nhóm gây độc tế bào hoặc có cảnh báo nguy hại từ nhà sản xuất                                                          |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 2.3       | Vỏ chai, lọ đựng thuốc hoặc hoá chất, các dụng cụ dính thuốc hoặc hoá chất thuộc nhóm gây độc tế bào hoặc có cảnh báo nguy hại từ nhà sản xuất |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 2.4       | Thiết bị y tế bị vỡ, hỏng, đã qua sử dụng thải bỏ có chứa thủy ngân, cadimi                                                                    |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 2.5       | Chất thải nguy hại không lây nhiễm dạng lỏng                                                                                                   |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 2.6       | Tổng lượng chất thải nguy hại khác                                                                                                             |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| <b>II</b> | <b>Tổng lượng chất thải rắn</b>                                                                                                                |                       | kg/năm      |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |



| TT         | Loại chất thải y tế             | Mã chất thải nguy hại | Đơn vị tính         | Số lượng chất thải phát sinh | Số lượng chất thải được xử lý đạt quy chuẩn kỹ thuật | Xử lý chất thải y tế              |                        |                         |                                             |
|------------|---------------------------------|-----------------------|---------------------|------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------|-------------------------|---------------------------------------------|
|            |                                 |                       |                     |                              |                                                      | Chuyển giao cho đơn vị khác xử lý |                        | Tự xử lý tại cơ sở y tế |                                             |
|            |                                 |                       |                     |                              |                                                      | Số lượng                          | Tên đơn vị chuyển giao | Số lượng                | Hình thức/ Phương pháp xử lý <sup>(*)</sup> |
|            | <b>thông thường</b>             |                       |                     |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| <b>III</b> | <b>Tổng lưu lượng nước thải</b> |                       | m <sup>3</sup> /năm |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 4.1        | Nước thải y tế                  |                       | m <sup>3</sup> /năm |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |
| 4.2        | Nước thải sinh hoạt             |                       | m <sup>3</sup> /năm |                              |                                                      |                                   |                        |                         |                                             |

Ghi chú: (\*) Hình thức/phương pháp tự xử lý chất thải y tế tại cơ sở y tế:

- Chất thải y tế nguy hại: KĐ (hấp ứ, vi sóng), C (Chôn lấp), LĐ (lò đốt 2 buồng), TC (đốt 1 buồng hoặc đốt thủ công), K (phương pháp khác);

Trường hợp một loại chất thải có áp dụng đồng thời trong kỳ báo cáo cả việc thuê xử lý và tự xử lý thì cần ghi rõ hình thức và phương pháp xử lý cho từng trường hợp cụ thể.

- Nước thải: HTXLNT (xử lý qua hệ thống xử lý nước thải), KT (Không xử lý bằng hệ thống xử lý nước thải, chỉ khử trùng nước thải trước khi xả ra môi trường), KXL (Không xử lý, thải thẳng ra môi trường).

2.3. Thống kê xử lý chất thải y tế theo mô hình cụm cơ sở y tế trong kỳ báo cáo (chỉ thực hiện đối với cơ sở y tế thực hiện xử lý chất thải y tế cho cụm cơ sở y tế):

| TT  | Loại chất thải y tế | Lượng chất thải y tế nhận từ các cơ sở y tế trong cụm (kg/năm) | Phạm vi xử lý (ghi tên các cơ sở y tế trong cụm) |
|-----|---------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| ... |                     |                                                                |                                                  |

#### 2.4. Thống kê lượng chất thải nhựa trong năm

| TT | Loại chất thải nhựa                                     | Số lượng phát sinh (kg/năm) | Số lượng chuyển giao để tái chế (kg/năm) | Tên đơn vị nhận chuyển giao để tái chế |
|----|---------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1  | Chất thải lây nhiễm                                     |                             |                                          |                                        |
| 2  | Chất thải nguy hại không lây nhiễm                      |                             |                                          |                                        |
| 3  | Chất thải rắn thông thường:                             |                             |                                          |                                        |
| -  | Chất thải rắn thông thường từ sinh hoạt thường ngày     |                             |                                          |                                        |
| -  | Chất thải rắn thông thường từ hoạt động chuyên môn y tế |                             |                                          |                                        |
|    | <b>Tổng cộng(1+2+3)</b>                                 |                             |                                          |                                        |

### 2.5. Thống kê nhân lực thực hiện quản lý chất thải y tế

| TT  | Họ tên                                                                           | Năm sinh | Trình độ chuyên môn | Chuyên ngành về môi trường được đào tạo | Tham gia làm về quản lý chất thải |            | Chứng chỉ đào tạo về quản lý chất thải/vận hành hệ thống |                      |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------|----------|---------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------|------------|----------------------------------------------------------|----------------------|
|     |                                                                                  |          |                     |                                         | Toàn thời gian                    | Kiểm nhiệm | Đối tượng được đào tạo                                   | Đơn vị cấp chứng chỉ |
| I   | Cán bộ chuyên trách quản lý chất thải                                            |          |                     |                                         |                                   |            |                                                          |                      |
| ... |                                                                                  |          |                     |                                         |                                   |            |                                                          |                      |
| II  | Nhân viên vận hành hệ thống xử lý chất thải (nước thải, chất thải rắn, khí thải) |          |                     |                                         |                                   |            |                                                          |                      |
| ... |                                                                                  |          |                     |                                         |                                   |            |                                                          |                      |

### 2.6. Thống kê công trình/thiết bị xử lý chất thải y tế

| TT  | Tên công trình, thiết bị                  | Công nghệ xử lý | Năm đưa vào vận hành | Tình trạng hoạt động hiện nay |                                  |                           | Công suất xử lý theo thiết kế | Công suất xử lý thực tế |
|-----|-------------------------------------------|-----------------|----------------------|-------------------------------|----------------------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------|
|     |                                           |                 |                      | Hoạt động tốt                 | Hoạt động không ổn định, quá tải | Hỏng hoặc không hoạt động |                               |                         |
| I   | Thiết bị xử lý chất thải rắn y tế         |                 |                      |                               |                                  |                           |                               |                         |
| ... |                                           |                 |                      |                               |                                  |                           |                               |                         |
| II. | Công trình, hệ thống xử lý nước thải y tế |                 |                      |                               |                                  |                           |                               |                         |
| ... |                                           |                 |                      |                               |                                  |                           |                               |                         |

### Phần 3. Kế hoạch quản lý chất thải y tế trong năm tiếp theo

#### Phần 4. Các vấn đề khác

#### Phần 5. Kết luận, kiến nghị

Nơi nhận:

**THỦ TRƯỞNG CƠ SỞ**

(Ký, ghi họ tên, đóng dấu)



## B. Mẫu báo cáo kết quả quản lý chất thải y tế định kỳ của Sở Y tế

UBND TỈNH, TP .....  
SỞ Y TẾ  
-----

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM  
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc  
-----

Số: ...../.....

....., ngày... tháng... năm.....

**BÁO CÁO KẾT QUẢ QUẢN LÝ CHẤT THẢI Y TẾ NĂM ....**  
(Kỳ báo cáo: từ ngày 15/12/20..... đến ngày 14/12/20.....)

Kính gửi: Cục Quản lý môi trường y tế, Bộ Y tế;

### Phần 1. Thông tin chung

1.1. Tên đơn vị báo cáo: .....

Địa chỉ: ..... Điện thoại: .....

Tên lãnh đạo Sở Y tế phụ trách: .....; chức vụ: .....

Tên phòng đầu mối: .....

Tên người tổng hợp báo cáo: .....

Điện thoại: .....; Email: .....

### Phần 2. Kết quả hoạt động quản lý, chỉ đạo điều hành

1. Xây dựng kế hoạch năm về quản lý chất thải y tế, đào tạo, tập huấn, truyền thông, phổ biến pháp luật, kiểm tra, giám sát (liệt kê số hiệu văn bản, ngày ký, trích yếu văn bản).

2. Công tác chỉ đạo, hướng dẫn, kiểm tra giám sát các cơ sở y tế thực hiện các quy định của pháp luật về quản lý chất thải y tế (liệt kê số hiệu văn bản, ngày ký, trích yếu văn bản).

### Phần 3. Kết quả các hoạt động quản lý chất thải y tế trong kỳ báo cáo

3.1. Tình hình chung về hoạt động quản lý chất thải y tế trong kỳ báo cáo:

a) Thông tin về số lượng cơ sở y tế hiện có, số giường bệnh, số cơ sở y tế có đủ hồ sơ liên quan đến thủ tục môi trường, liên quan đến quản lý chất thải y tế:

| TT                                   | Loại hình cơ sở y tế                                                              | Tổng số cơ sở y tế trên địa bàn | Tổng số giường bệnh (nếu có) |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------------|
| <b>I Cơ sở y tế công lập:</b>        |                                                                                   |                                 |                              |
| 1                                    | Bệnh viện/Trung tâm y tế cấp huyện có chức năng khám, chữa bệnh                   |                                 |                              |
| 2                                    | Trạm y tế cấp xã                                                                  |                                 |                              |
| 3                                    | Cơ sở khám, chữa bệnh khác                                                        |                                 |                              |
| 4                                    | Cơ sở y tế dự phòng                                                               |                                 |                              |
| 5                                    | Cơ sở đào tạo, nghiên cứu, xét nghiệm, kiểm nghiệm, kiểm định, thử nghiệm y, dược |                                 |                              |
| <b>II Cơ sở y tế ngoài công lập:</b> |                                                                                   |                                 |                              |
| 1                                    | Bệnh viện                                                                         |                                 |                              |
| 2                                    | Cơ sở y tế tư nhân khác                                                           |                                 |                              |

Nhận xét, đánh giá: .....





b) Kết quả đào tạo, truyền thông, phổ biến pháp luật về quản lý chất thải y tế:

| TT        | Loại hình cơ sở y tế                                                              | Số cơ sở y tế được đào tạo, tập huấn | Số cơ sở y tế thực hiện hoạt động truyền thông | Số cơ sở y tế thực hiện hoạt động phổ biến pháp luật |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| <b>I</b>  | <b>Cơ sở y tế công lập:</b>                                                       |                                      |                                                |                                                      |
| 1         | Bệnh viện/Trung tâm y tế cấp huyện có chức năng khám, chữa bệnh                   |                                      |                                                |                                                      |
| 2         | Trạm y tế cấp xã                                                                  |                                      |                                                |                                                      |
| 3         | Cơ sở khám, chữa bệnh khác                                                        |                                      |                                                |                                                      |
| 4         | Cơ sở y tế dự phòng                                                               |                                      |                                                |                                                      |
| 5         | Cơ sở đào tạo, nghiên cứu, xét nghiệm, kiểm nghiệm, kiểm định, thử nghiệm y, dược |                                      |                                                |                                                      |
| <b>II</b> | <b>Cơ sở y tế ngoài công lập:</b>                                                 |                                      |                                                |                                                      |
| 1         | Bệnh viện                                                                         |                                      |                                                |                                                      |
| 2         | Cơ sở y tế tư nhân khác                                                           |                                      |                                                |                                                      |
| Tổng cộng |                                                                                   |                                      |                                                |                                                      |

Nhận xét: .....

c) Kết quả hoạt động thanh, kiểm tra

- Số lần tiến hành thanh tra, kiểm tra trong kỳ báo cáo: ..... lần.

- Kết quả thanh tra, kiểm tra và xử lý vi phạm hành chính:

| TT        | Loại hình cơ sở y tế                                                              | Số cơ sở được thanh tra, kiểm tra | Số cơ sở có tồn tại, vi phạm | Kết quả khắc phục tồn tại, vi phạm |                         |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
|           |                                                                                   |                                   |                              | Số cơ sở đã khắc phục              | Số cơ sở chưa khắc phục |
| <b>I</b>  | <b>Cơ sở y tế công lập:</b>                                                       |                                   |                              |                                    |                         |
| 1         | Bệnh viện/Trung tâm y tế cấp huyện có chức năng khám, chữa bệnh                   |                                   |                              |                                    |                         |
| 2         | Trạm y tế cấp xã                                                                  |                                   |                              |                                    |                         |
| 3         | Cơ sở khám, chữa bệnh khác                                                        |                                   |                              |                                    |                         |
| 4         | Cơ sở y tế dự phòng                                                               |                                   |                              |                                    |                         |
| 5         | Cơ sở đào tạo, nghiên cứu, xét nghiệm, kiểm nghiệm, kiểm định, thử nghiệm y, dược |                                   |                              |                                    |                         |
| <b>II</b> | <b>Cơ sở y tế ngoài công lập:</b>                                                 |                                   |                              |                                    |                         |
| 1         | Bệnh viện                                                                         |                                   |                              |                                    |                         |

*(Chữ ký và dấu)*

| TT | Loại hình cơ sở y tế | Số cơ sở được thanh tra, kiểm tra | Số cơ sở có tồn tại, vi phạm | Kết quả khắc phục tồn tại, vi phạm |                         |
|----|----------------------|-----------------------------------|------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
|    |                      |                                   |                              | Số cơ sở đã khắc phục              | Số cơ sở chưa khắc phục |
| 2  | Cơ sở khác           |                                   |                              |                                    |                         |

## d) Kết quả quan trắc môi trường

| TT | Loại hình cơ sở y tế                                            | Quan trắc nước thải     |                                  |                                             | Quan trắc khí thải      |                                  |                                             | Giám sát hiệu quả xử lý của thiết bị xử lý chất thải y tế |                                  |                                            |
|----|-----------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------|
|    |                                                                 | Tổng số cơ sở thực hiện | Số cơ sở thực hiện đúng quy định | Số cơ sở có kết quả quan trắc đạt quy chuẩn | Tổng số cơ sở thực hiện | Số cơ sở thực hiện đúng quy định | Số cơ sở có kết quả quan trắc đạt quy chuẩn | Tổng số cơ sở thực hiện                                   | Số cơ sở thực hiện đúng quy định | Số cơ sở có kết quả giám sát đạt quy chuẩn |
| I  | Cơ sở y tế công lập:                                            |                         |                                  |                                             |                         |                                  |                                             |                                                           |                                  |                                            |
| 1  | Bệnh viện/Trung tâm y tế cấp huyện có chức năng khám, chữa bệnh |                         |                                  |                                             |                         |                                  |                                             |                                                           |                                  |                                            |
| 2  | Cơ sở khác (ghi rõ tên)                                         |                         |                                  |                                             |                         |                                  |                                             |                                                           |                                  |                                            |
| II | Cơ sở y tế ngoài công lập:                                      |                         |                                  |                                             |                         |                                  |                                             |                                                           |                                  |                                            |
| 1  | Bệnh viện                                                       |                         |                                  |                                             |                         |                                  |                                             |                                                           |                                  |                                            |
| 2  | Cơ sở khác (ghi rõ tên)                                         |                         |                                  |                                             |                         |                                  |                                             |                                                           |                                  |                                            |
|    | Tổng cộng                                                       |                         |                                  |                                             |                         |                                  |                                             |                                                           |                                  |                                            |

**Nhận xét:** Đề nghị nêu rõ các nội dung sau:

- Nhận xét về việc chấp hành quy định về tần suất quan trắc, nội dung quan trắc, kết quả quan trắc;
- Nêu cụ thể tên các đơn vị không thực hiện đủ các nội dung quan trắc theo quy định. Lý do?



## 3.2. Thống kê chất thải y tế phát sinh và được xử lý trong kỳ báo cáo:

| TT                            | Loại hình cơ sở y tế                                                              | Tổng số cơ gửi báo cáo | Chất thải lây nhiễm (kg/năm) |                                   | Chất thải nguy hại không lây nhiễm (kg/năm) |                                   | Chất thải rắn thông thường (kg/năm) |                     | Nước thải y tế (m <sup>3</sup> /năm) |                                       |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------|------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
|                               |                                                                                   |                        | Tổng số lượng phát sinh      | Số lượng được xử lý đạt quy chuẩn | Tổng số lượng phát sinh                     | Số lượng được xử lý đạt quy chuẩn | Tổng số lượng phát sinh             | Số lượng được xử lý | Tổng lưu lượng phát sinh             | Số lưu lượng được xử lý đạt quy chuẩn |
| I Cơ sở y tế công lập:        |                                                                                   |                        |                              |                                   |                                             |                                   |                                     |                     |                                      |                                       |
| 1                             | Bệnh viện/Trung tâm y tế cấp huyện có chức năng khám, chữa bệnh                   |                        |                              |                                   |                                             |                                   |                                     |                     |                                      |                                       |
| 2                             | Trạm y tế cấp xã                                                                  |                        |                              |                                   |                                             |                                   |                                     |                     |                                      |                                       |
| 3                             | Cơ sở khám, chữa bệnh khác                                                        |                        |                              |                                   |                                             |                                   |                                     |                     |                                      |                                       |
| 4                             | Cơ sở y tế dự phòng                                                               |                        |                              |                                   |                                             |                                   |                                     |                     |                                      |                                       |
| 5                             | Cơ sở đào tạo, nghiên cứu, xét nghiệm, kiểm nghiệm, kiểm định, thử nghiệm y, dược |                        |                              |                                   |                                             |                                   |                                     |                     |                                      |                                       |
| II Cơ sở y tế ngoài công lập: |                                                                                   |                        |                              |                                   |                                             |                                   |                                     |                     |                                      |                                       |
| 1                             | Bệnh viện                                                                         |                        |                              |                                   |                                             |                                   |                                     |                     |                                      |                                       |
| 2                             | Cơ sở khác                                                                        |                        |                              |                                   |                                             |                                   |                                     |                     |                                      |                                       |

Nhận xét, đánh giá: .....

## 3.3. Tình hình hoạt động của cơ sở xử lý chất thải y tế cho cụm cơ sở y tế (nếu có)

| TT | Nội dung | Địa điểm thực hiện | Công suất xử lý (kg/h) | Phạm vi thực hiện | Đơn vị thu gom, vận chuyển |
|----|----------|--------------------|------------------------|-------------------|----------------------------|
| 1  | Cụm....  |                    |                        |                   |                            |
| 2  | Cụm....  |                    |                        |                   |                            |

Nhận xét, đánh giá: .....



## 3.4. Thống kê phát sinh chất thải nhựa

| TT        | Loại hình cơ sở y tế                                                              | Chất thải nhựa phát sinh từ sinh hoạt thường ngày |                                          | Chất thải nhựa phát sinh từ hoạt động chuyên môn y tế |                                          |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------------------------|
|           |                                                                                   | Tổng lượng phát sinh (kg/năm)                     | Số lượng chuyển giao để tái chế (kg/năm) | Tổng lượng phát sinh (kg/năm)                         | Số lượng chuyển giao để tái chế (kg/năm) |
| <b>I</b>  | <b>Cơ sở y tế công lập:</b>                                                       |                                                   |                                          |                                                       |                                          |
| 1         | Bệnh viện/Trung tâm y tế cấp huyện có chức năng khám, chữa bệnh                   |                                                   |                                          |                                                       |                                          |
| 2         | Trạm y tế cấp xã                                                                  |                                                   |                                          |                                                       |                                          |
| 3         | Cơ sở khám, chữa bệnh khác                                                        |                                                   |                                          |                                                       |                                          |
| 4         | Cơ sở y tế dự phòng                                                               |                                                   |                                          |                                                       |                                          |
| 5         | Cơ sở đào tạo, nghiên cứu, xét nghiệm, kiểm nghiệm, kiểm định, thử nghiệm y, dược |                                                   |                                          |                                                       |                                          |
| <b>II</b> | <b>Cơ sở y tế ngoài công lập:</b>                                                 |                                                   |                                          |                                                       |                                          |
| 1         | Bệnh viện                                                                         |                                                   |                                          |                                                       |                                          |
| 2         | Cơ sở khác                                                                        |                                                   |                                          |                                                       |                                          |
|           | <b>Tổng cộng (I+II)</b>                                                           |                                                   |                                          |                                                       |                                          |

## 3.5. Thống kê nhân lực thực hiện quản lý chất thải y tế

| TT        | Loại hình cơ sở y tế                                            | Cán bộ chuyên trách quản lý chất thải y tế |                                                                                                 |                    |            | Nhân viên vận hành thiết bị, hệ thống xử lý chất thải y tế |                                                                                                              |                    |            |
|-----------|-----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|------------|
|           |                                                                 | Số lượng                                   | Có chuyên ngành đào tạo về môi trường hoặc được cấp chứng chỉ đào tạo về quản lý chất thải y tế | Thời gian làm việc |            | Số lượng                                                   | Có chuyên ngành đào tạo về môi trường và được tập huấn về vận hành thiết bị, công trình xử lý chất thải y tế | Thời gian làm việc |            |
|           |                                                                 |                                            |                                                                                                 | Toàn thời gian     | Kiểm nhiệm |                                                            |                                                                                                              | Toàn thời gian     | Kiểm nhiệm |
| <b>I</b>  | <b>CSYT công lập:</b>                                           |                                            |                                                                                                 |                    |            |                                                            |                                                                                                              |                    |            |
| 1         | Bệnh viện/Trung tâm y tế cấp huyện có chức năng khám, chữa bệnh |                                            |                                                                                                 |                    |            |                                                            |                                                                                                              |                    |            |
| 2         | Cơ sở khác                                                      |                                            |                                                                                                 |                    |            |                                                            |                                                                                                              |                    |            |
| <b>II</b> | <b>CSYT ngoài công lập:</b>                                     |                                            |                                                                                                 |                    |            |                                                            |                                                                                                              |                    |            |
| 1         | Bệnh viện                                                       |                                            |                                                                                                 |                    |            |                                                            |                                                                                                              |                    |            |
| 2         | Cơ sở khác                                                      |                                            |                                                                                                 |                    |            |                                                            |                                                                                                              |                    |            |

## 3.5. Thống kê công trình, hệ thống, thiết bị xử lý chất thải y tế

| TT | Loại hình cơ sở y tế                                                              | Hệ thống xử lý nước thải |                               |                                  |                           | Thiết bị xử lý chất thải rắn y tế |                               |                                  |                           |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------|----------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
|    |                                                                                   | Số lượng                 | Tình trạng hoạt động hiện nay |                                  |                           | Số lượng                          | Tình trạng hoạt động hiện nay |                                  |                           |
|    |                                                                                   |                          | Hoạt động tốt                 | Hoạt động không ổn định, quá tải | Hỏng hoặc không hoạt động |                                   | Hoạt động tốt                 | Hoạt động không ổn định, quá tải | Hỏng hoặc không hoạt động |
| I  | Cơ sở y tế công lập:                                                              |                          |                               |                                  |                           |                                   |                               |                                  |                           |
| 1  | Bệnh viện/Trung tâm y tế cấp huyện có chức năng khám, chữa bệnh                   |                          |                               |                                  |                           |                                   |                               |                                  |                           |
| 2  | Trạm y tế cấp xã                                                                  |                          |                               |                                  |                           |                                   |                               |                                  |                           |
| 3  | Cơ sở khám, chữa bệnh khác                                                        |                          |                               |                                  |                           |                                   |                               |                                  |                           |
| 4  | Cơ sở y tế dự phòng                                                               |                          |                               |                                  |                           |                                   |                               |                                  |                           |
| 5  | Cơ sở đào tạo, nghiên cứu, xét nghiệm, kiểm nghiệm, kiểm định, thử nghiệm y, dược |                          |                               |                                  |                           |                                   |                               |                                  |                           |
| II | Cơ sở y tế ngoài công lập:                                                        |                          |                               |                                  |                           |                                   |                               |                                  |                           |
| 1  | Bệnh viện                                                                         |                          |                               |                                  |                           |                                   |                               |                                  |                           |
| 2  | Cơ sở khác                                                                        |                          |                               |                                  |                           |                                   |                               |                                  |                           |

**Phần 4. Kế hoạch quản lý chất thải y tế trong năm tiếp theo**

**Phần 5. Các vấn đề khác**

**Phần 6. Kết luận, kiến nghị**

**Nơi nhận:**

- ...

**GIÁM ĐỐC SỞ Y TẾ**  
(Ký, ghi họ tên, đóng dấu)