

MỤC LỤC

Bài 1: Cách sử dụng và bảo quản dụng cụ trong phòng xét nghiệm.....	1
Bài 2: Cách lấy và bảo quản bệnh phẩm.....	9
Bài 3: An toàn sinh học trong phòng xét nghiệm.....	17
Bài 4: Phương pháp đo quang sử dụng trong hóa sinh lâm sàng.....	27
Bài 5: Dung dịch và cách biểu thị nồng độ trong dung dịch.....	32
Bài 6: Nguyên tắc vận hành máy nước tiểu.....	35
Bài 7: Xét nghiệm hóa sinh dịch não tủy, dịch chọc dò, 10 thông số NT.....	38
Bài 8: Biện luận xét nghiệm hóa sinh nước tiểu.....	55
Bài 9: Vẽ biểu đồ protein.....	68
Bài 10: Định lượng protein dịch não tủy, dịch chọc dò, nước tiểu.....	71
Bài 11: Định lượng ure huyết.....	74
Bài 12: Định lượng creatinin huyết thanh.....	78
Bài 13: Định lượng glucose và phương pháp so màu, enzym so màu.....	82
Bài 14: Định lượng protein huyết thanh.....	86
Bài 15: Định lượng cholesteron.....	89
Bài 16: Định lượng triglyxerid.....	94
Bài 17: Xác định hoạt độ GOT/GPT.....	98
Bài 18: Xác định hoạt độ Amylase.....	103
Bài 19: Quản lý chất lượng xét nghiệm.....	106

LỜI NÓI ĐẦU

Cùng với sự phát triển khoa học kỹ thuật trong y học....nhiều bệnh lý trong lâm sàng được chẩn đoán và điều trị sớm giúp công tác điều trị ngày càng hiệu quả hơn nhờ sự phát triển không ngừng của các kỹ thuật thăm dò hiện đại. Hóa sinh là chuyên ngành có ứng dụng nhiều trong y học, các tuyến điều trị đặc biệt trong giai đoạn hiện nay, nhằm giảm tải cho các tuyến trên thì các tuyến huyện, xã các xét nghiệm hóa sinh cũng được ứng dụng rộng rãi trong công tác khám bệnh, chữa bệnh.

Để đáp ứng nhu cầu thực tiễn, đào tạo xét nghiệm hóa sinh cơ bản cho các đối tượng là bác sỹ, kỹ thuật viên, điều dưỡng viên công tác trong ngành hóa sinh chúng tôi biên soạn cuốn tài liệu này. Nội dung cuốn sách cung cấp những kiến thức cơ bản về lấy mẫu bệnh phẩm, xử lý dụng cụ, trang thiết bị thiết yếu trong phòng xét nghiệm hóa sinh, những kỹ thuật xét nghiệm đang sử dụng phổ biến hiện nay.

Trên cơ sở của học bằng chứng, chúng tôi đã cập nhật những thiết bị, phương pháp, những thông tin mới về xét nghiệm có giá trị giúp cho các bác sỹ, kỹ thuật viên làm trong ngành xét nghiệm có thể sử dụng xét nghiệm hiệu quả nhất và tiến hành phân tích đưa ra kết quả xét nghiệm tin cậy.

Cuốn sách được tham khảo những nguồn thông tin đáng tin cậy, cập nhật và được biên tập công phu phù hợp với trang thiết bị, phương pháp mà các phòng xét nghiệm địa phương đang sử dụng. Với sự tham gia của các Bác sỹ, cử nhân có kinh nghiệm làm thực tế. Tuy vậy, cuốn sách vẫn có thể có nhiều thiếu sót. Các tác giả mong nhận được sự đóng góp ý kiến của bạn đọc để cuốn sách ngày càng hoàn thiện hơn.

THAY MẶT BAN BIÊN SOẠN

TS.BS Lê Thị Hương Lan
Trưởng khoa Sinh Hóa-
Bệnh viện đa khoa Trung ương Thái Nguyên

BIÊN SOẠN TÀI LIỆU

CHỦ BIÊN:

TS.BS Lê Thị Hương Lan, Trưởng khoa Sinh Hóa-Bệnh viện ĐKTV Thái Nguyên

ĐỒNG BIÊN SOẠN:

ThS Nguyễn Thu Giang

KTV Vương Thị Hồng Loan

CN Nguyễn Thị Lan

CN Nguyễn Thu Hà

CN Nguyễn Hồng Phúc

Bài 1: CÁCH SỬ DỤNG VÀ BẢO QUẢN DỤNG CỤ TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM

TS.BS Lê Thị Hương Lan

CN. CD Vương Hồng Loan

Mục tiêu bài học:

1. Trình bày được cách sử dụng, bảo quản và xử lý những dụng cụ thông thường trong phòng thí nghiệm Hoá sinh.
2. Trình bày được một số thiết bị cần thiết trong phòng xét nghiệm Hóa sinh.

II - NỘI DUNG

A - DỤNG CỤ VÀ CÁCH SỬ DỤNG

Trong phòng xét nghiệm Hoá sinh lâm sàng, muốn làm được các xét nghiệm thông thường cần phải có các dụng cụ, những dụng cụ thường dùng có thể chia ra làm 2 nhóm:

** Dựa theo tính năng sử dụng*

- Dụng cụ để đo lường
- Dụng cụ không để đo lường

** Dựa theo chất liệu*

- Dụng cụ bằng thuỷ tinh.
- Dụng cụ bằng plastic

1. Dụng cụ để đo lường

Để hạn chế sai số do dụng cụ này gây ra khi dùng cần lưu ý:

- Dụng cụ đo lường phải thật sạch sẽ.
- Sử dụng ở điều kiện nhiệt độ nhất định (20⁰C).
- Không đun nóng những dụng cụ này.

1.1. Pipet: Có 2 loại là pipet thuỷ tinh và pipet tự động.

1.1.1. Pipet thuỷ tinh.

Có 2 loại là pipet định mức và pipet chia độ.

* *Pipet định mức* (pipet có bầu): Trên thân có bầu và có ngăn dùng để lấy những thể tích cần độ chính xác cao.

- Dung tích ghi trên bầu có nhiều loại: 2ml, 5ml, 10ml
- Loại 1 ngăn: dung tích của pipet tính từ ngăn đến phía dưới của pipet.
- Loại 2 ngăn: dung tích của pipet tính từ ngăn trên đến ngăn dưới.

* *Pipet chia độ*: Có nhiều vạch trên thân để chia dung tích trong ống. Loại pipet này dùng để lấy thể tích nhỏ 1/5ml, 1/10ml. Độ chính xác không cao.

1.1.2. Pipet tự động: Có 2 loại

Pipet cố định và pipet bán cố định:

- Pipet cố định: Dung tích của pipet ghi trên thân. Có nhiều loại: 20 μ l, 50 μ l, 100 μ l, 500 μ l, 1000 μ l.

- Pipet bán cố định: là loại pipet có thể điều chỉnh thể tích cần lấy theo ý muốn. Trên pipet có ghi dung tích tối thiểu và tối đa. Có nhiều loại pipet bán cố định.

1.2. Buret

Buret thường dùng có dung tích là loạn, trên thân buret có vạch chia độ tới 1/10 và có khoá.

- Dùng để chuẩn độ
- Khi dùng để tránh sai số về thể tích nên cho chảy chậm.
- Sau khi dùng phải rửa sạch bằng nước cất, lau khô, bôi vaselin vào khoá để tránh kẹt.

- Để tránh bụi phải đậy lên trên một cái mũ giấy chụp sâu khoảng 5 cm.

1.3. Ống đong

- Dùng để đong chất lỏng
- Thân ống có vạch chia độ
- Loại dụng cụ này có độ chính xác không cao.
- Thân ống đong càng lớn độ chính xác càng kém.

1.4. Cốc chia độ

- Dùng để hoà tan các chất và đong các dung dịch với dung tích lớn không cần độ chính xác cao.

- Cốc thường có chân, thân cốc có vạch chia độ, phần miệng cốc rộng hơn phần đáy cốc.

- Cốc chia độ có nhiều loại: 100ml; 250ml; 500ml.

1.5. Bình định mức

- Bình có cổ dài, nhỏ. Trên cổ có ngấn đánh dấu dung tích của bình.

- Phần đáy hình cầu có ghi dung tích của bình.

- Bình để pha dung dịch cần độ chính xác cao và các dung dịch bay hơi.

- Bình có nhiều loại: 10ml, 50ml, 200ml, 500ml, 1000ml, 2000ml.

1.6. Cân

* Một cân tốt phải có đủ 3 yếu tố: đúng, tin, nhạy.

- Cân đúng: Là khi khối lượng cân của một vật phải đúng hoàn toàn với khối lượng của quả cân đã được thăng bằng.

- Cân tin: là khi cân nhiều lần bằng cách đặt một vật ở những chỗ khác nhau trên đĩa cân, kết quả vẫn như nhau.

- Cân nhạy: là khi để một khối lượng rất nhỏ lên đĩa cân, cân bị mất thăng bằng.

* Phân loại: trong phòng xét nghiệm thường dùng 3 loại sau:

- Cân đĩa: Cân hơn kém 0,50g những khối lượng từ 20g đến 10kg.

- Cân quang: Cân hơn kém 0,01g những khối lượng từ 0,05g đến 20g.

- Cân chính xác: Nhạy tới 1/10mg hay 1/100mg, dùng để cân những khối lượng từ 1mg đến vài gam.

1.7. Tỷ trọng kế: Là phù kế có chia độ.

- Phù kế đo nước tiểu: chia vạch theo tỷ trọng từ 1000 - 1060

2. Dụng cụ không để đo lường.

2.1. Dụng cụ bằng thủy tinh: Những bình thủy tinh với kích cỡ khác nhau được sản xuất để sử dụng trong phòng thí nghiệm. Những bình này có thể được định cỡ, có thể không, sự định cỡ chỉ là ước lượng nên không hay dùng để

xác định thể tích chính xác. Những bình này chủ yếu để đựng hoặc để chuyển dung dịch từ bình chứa này sang bình chứa khác gồm các loại dụng cụ sau:

- *Cốc có mỏ*: Có hình trụ miệng rộng, trên đỉnh có mỏ, thường dùng để chuyển chất lỏng sang bình khác.

- *Bình cầu*: đáy bình rộng, cổ hẹp, dùng để chứa dung dịch. Loại bình này có dung tích lớn: 1 lít, 5 lít.

- *Bình nón*: Có hình thon, cổ hẹp. Dùng để chuẩn độ.

- *Bộ cất*:

Bộ chưng cất dùng để cất nước, cất khi thu hồi dung môi đã dùng hoặc để tinh chế dung môi cần độ tinh khiết.

+ Cấu tạo bộ cất:

Bộ cất gồm một bình cất có ống ngang, một ống sinh hàn, một bình hứng. Các bộ phận này được nối với nhau bằng nút lie tốt.

Bình cất có dung tích 1 lít hoặc 5 lít. Bình có cổ dài để cất dung môi có độ sôi cao. Bình có 2 cổ để cất dung môi dễ bay.

Ống sinh hàn: Độ dài ống phụ thuộc vào dung môi cất. Dung môi có độ sôi thấp như ete, ete dầu hoả, cồn methylic dùng ống sinh hàn 500 - 600mm. Dung môi có độ sôi cao dùng ống sinh hàn ngắn hơn, khoảng 200mm.

+ Phương pháp cất:

- Cất dưới áp suất bình thường: cất nước và tinh chế dung môi.
- Cất phân đoạn dưới áp suất bình thường: để tách hỗn hợp có nhiều dung môi.
- Cất dưới áp suất giảm: dùng chiết xuất một số chất.
- Cất phân đoạn dưới áp suất giảm.

B. CÁCH XỬ LÝ VÀ BẢO QUẢN DỤNG CỤ

I. Xử lý dụng cụ thuỷ tinh mới dùng lần đầu:

Dụng cụ thuỷ tinh mới thường có tính kiềm, vì vậy ta cần xử lý qua dung dịch a xít để trung hoà độ kiềm bằng cách:

- Ngâm dụng cụ mới vào axit sulfuric (H_2SO_4) 10% từ 3 - 5 ngày.
- Rửa bằng nước thường và ngâm nước cất 1 - 2 ngày, để khô.

II. Xử lý dụng cụ thủy tinh đã dùng bẩn

1. Dụng cụ thủy tinh

- Dụng cụ bẩn phải ngâm trong dung dịch hỗn hợp (sunfocromic): Natri hoặc Kalibicromat và axit sunfuric trong 24 giờ. Sau khi ngâm với dung dịch sunfocromic dụng cụ phải rửa sạch bằng nước thường, tráng bằng nước cất và để khô trên bàn, trên giá hoặc tủ sấy.

- Chú ý: với dụng cụ đo lường bằng thủy tinh phải làm khô bằng không khí tránh làm biến dạng thủy tinh làm thay đổi độ chính xác.

- Dụng cụ chia độ chính xác cần rửa cẩn thận đảm bảo thật sạch và khô trước khi dùng. Nếu phải dùng dụng cụ thủy tinh còn ướt phải tráng từ 2 đến 3 lần bằng dung dịch sẽ dùng.

- Riêng dụng cụ thủy tinh đựng bạc nitrat (AgNO_3) rửa hoàn toàn bằng nước thường rồi tráng bằng nước cất.

- Dung dịch rửa: 47g Natri phosphat (Na_3PO_4) 28g Natrioleat, hoàn thành 500ml với nước cất.

- *Cách pha dung dịch sunfocromic:*

+ *Dung dịch đặc gồm*

Kalibicromat (K_2CrO_4): 60g

Acid sunfuric (H_2SO_4): 66g

Nước cất: 1000ml

Lưu ý: Cho K_2CrO_4 vào nước trước, sau đó cho H_2SO_4 vào từ từ (không được cho axit vào nước hoặc vào K_2CrO_4 ngay).

2. Dụng cụ Plastic

+ Không sử dụng dụng cụ bằng plastic đối với những chất oxy hoá mạnh.

+ Không để dụng cụ loại này tiếp xúc trực tiếp với lửa hoặc kim loại nóng.

- Ưu điểm so với dụng cụ thủy tinh: ít vỡ, rẻ và an toàn hơn vì có thể dùng 1 lần.

- Nhược điểm: dễ thấm khí, dễ bị oxy hoá, bị thay đổi bởi pH và không khử trùng được.

C. MỘT SỐ THIẾT BỊ CƠ BẢN CẦN THIẾT CHO PHÒNG XÉT NGHIỆM

1. **Máy ly tâm:** là thiết bị không thể thiếu của mỗi phòng xét nghiệm. Máy ly tâm có nhiều loại tùy thuộc kích thước của ống nghiệm cần ly tâm. Căn cứ vào nhu cầu : số lượng mẫu, kích thước ống máu, chất liệu ống bệnh phẩm và tốc độ ly tâm mà người ta lựa chọn máy ly tâm cho phù hợp.

Nguyên tắc sử dụng: Phải đảm bảo nguyên tắc cân bằng, đối xứng qua trục rotor.

Tốc độ ly tâm: xét nghiệm máu sinh hóa sử dụng 4000-5000 vòng/phút/ 5 phút; nước tiểu (ống thủy tinh : 2000 vòng phút/3 phút.

2. Máy Sinh hóa bán tự động:

Có nhiều loại; người sử dụng thực hiện phản ứng trên ống nghiệm rồi đo trên máy.

Một số chú ý:

- Bất máy đảm bảo thời gian ủ ấm.
- Sử dụng dung dịch rửa đúng qui trình.
- Sau khi chuẩn máy sử dụng mẫu kiểm tra chất lượng rồi mới phân tích mẫu bệnh nhân.
- Kết quả phụ thuộc vào kỹ thuật của kỹ thuật viên xét nghiệm.

3. **Máy tích nước tiểu 10 thông số:** cho phép khảo sát 10-11 hoặc 12 thông số nước tiểu. (xem bài máy nước tiểu).

4. Máy điện giải đồ:

- Nguyên lý: sử dụng điện cực chọn lọc
- Các loại máy điện giải đồ: phân tích các ion: Na, K, Cl; Na, K, Ca; Na, K và liti...

5. Máy sinh hóa tự động:

Gồm nhiều loại máy; tự động hoàn toàn: gồm tất cả các khâu: kiểm tra hóa chất, chuẩn, kiểm tra chất lượng, phân tích mẫu bệnh nhân: hút bệnh phẩm, thực hiện phản ứng và đo trên máy, rửa... Chương trình được lập trình ngay trên máy.

Thực hiện các xét nghiệm trên máy tự động yêu cầu cán bộ xét nghiệm phải được đào tạo, hướng dẫn sử dụng bài bản và thực hiện theo đúng qui trình kỹ thuật để tránh sai số hệ thống. Một số chương trình cơ bản trên máy:

- Chuẩn xét nghiệm (calibration)
- Kiểm tra chất lượng (quality control)
- Phân tích mẫu bệnh nhân

6. Máy Miễn dịch tự động: là hệ thống máy có độ nhạy và độ chính xác rất cao có khả năng định lượng các chất có nồng độ rất thấp trong cơ thể: các hormon, marker ung thư,các chất bất thường....

Nguyên lý: sử dụng nguyên lý Kháng nguyên + kháng thể + chất đánh dấu (phóng xạ, hóa phát quang,....)

Công nghệ được sử dụng hiện nay trong hệ thống xét nghiệm miễn dịch là:

- + Miễn dịch phóng xạ
- + Miễn dịch enzym (Eliza)
- + Miễn dịch huỳnh quang
- + Miễn dịch hóa phát quang
- + Miễn dịch điện hóa phát quang.

7. Tủ lạnh: bảo quản hóa chất, bệnh phẩm

8. Tủ sấy:

9. Bể ấm...

10. Các máy sinh học phân tử: PCR, real time PCR, điện di, giải trình tự gen....

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Tìm câu trả lời đúng nhất

1- Để hạn chế sai số dụng cụ đo lường gây ra ta cần làm gì?

- a. Dụng cụ đo phải sạch.
- b. Sử dụng ở nhiệt độ nhất định.
- c. Không đun nóng dụng cụ.
- d. Cả 3 yếu tố trên.

2 - Pipet tự động có mấy loại:

- a. 1 loại.
- b. 2 loại.
- c. 3 loại.
- d. 4 loại.

3- Cân tốt cần những yêu tố nào ?

- a. Cân đúng.
- b. Cân tin.
- c. Cân nhạy.
- d. Cả 3 yếu tố trên.

4- Dụng cụ thủy tinh trước khi dùng còn ướt thì ta phải tráng dụng cụ bằng:

- a. Dung dịch sẽ dùng.
- b. Nước thường .
- c. Nước cất .
- d . Nước thường, nước cất.

5- Bình định mức dùng để làm gì ?

- a. Đựng dung dịch.
- b. Đong các chất lỏng.
- c. Pha dung dịch cần độ chính xác cao và các dung dịch bay hơi.
- d . Pha dung dịch có độ chính xác.

6. Kể tên các loại thiết bị thiết yếu trong phòng xét nghiệm sinh hóa

Bài 2: CÁCH LẤY VÀ BẢO QUẢN BỆNH PHẨM

TS.BS. Lê Thị Hương Lan

KTV- CD Vương Hồng Loan

*** Mục tiêu bài học**

1. Trình bày được kỹ thuật lấy máu, những nguyên nhân gây sai số khi lấy máu và cách bảo quản bệnh phẩm.
2. Nêu được các chất chống đông sử dụng trong quá trình lấy máu.
3. Phân biệt được sự khác nhau giữa máu toàn phần, huyết tương và huyết thanh.
4. Trình bày được cách lấy nước tiểu, các chất bảo quản nước tiểu và cách bảo quản nước tiểu, các loại dịch sử dụng trong các xét nghiệm hóa sinh.

A. CÁCH LẤY VÀ BẢO QUẢN MÁU

I. CÁCH LẤY MÁU

1. Chuẩn bị bệnh nhân

- Dẫn bệnh nhân nhịn ăn sáng trước khi lấy máu vào buổi sáng
- Để bệnh nhân ngồi nghỉ trên ghế vào khoảng 10 phút trước khi lấy máu.
- Cần có sự kiểm tra đối chiếu tên, tuổi của bệnh nhân cùng với chẩn đoán lâm sàng trên phiếu xét nghiệm với bệnh nhân cần lấy máu.

2. Chuẩn bị dụng cụ

- Bơm kim tiêm, dây Garo, cồn sát trùng 70°C
- Chọn các ống nghiệm khô sạch không bị nhiễm bẩn để đựng máu, các ống nghiệm nhất thiết phải có nút đậy.
- Ống nghiệm đựng máu phải có nhãn ghi rõ họ, tên, tuổi, số giường của bệnh nhân.
- Tùy vào từng loại xét nghiệm mà chọn ống nghiệm có chất chống đông thích hợp đã được chuẩn bị sẵn hoặc ống nghiệm thường có chứa các hạt Polyethylen để làm tăng nhanh quá trình đông máu.

3. Vị trí lấy máu

- + Lấy máu tĩnh mạch:

- Thường lấy máu tĩnh mạch để làm xét nghiệm, các trường hợp đặc biệt có thể lấy máu ở động mạch hoặc mao mạch.

- Xác định vị trí lấy máu thích hợp, buộc garo ở phía trên vị trí lấy máu.

- Sau khi đưa kim vào tĩnh mạch cần tháo garo ngay. Một số xét nghiệm (Albumin, Canxi) sẽ tăng cao nếu buộc garo quá lâu. Khi buộc garo kéo dài trong ba phút, sự ứ đọng máu sẽ làm tăng sự phân hủy yếm khí glucose kéo theo sự giảm pH máu và sự tích tụ lactat.

+ Lấy máu mao mạch:

- Thường được sử dụng ở các bệnh nhi. Máu mao mạch được lấy ở đầu ngón tay, gót chân hoặc da tai.

- Làm giãn mạch bằng nước nóng hoặc xoa bóp

- Có thể xoa thuốc mỡ silicon vào chỗ lấy máu để giọt máu đọng lại; không bị loang ra.

+ Lấy máu động mạch:

- Phải lấy máu động mạch khi làm xét nghiệm đo pH và khí máu.

- Thường lấy máu ở động mạch quay, động mạch cánh tay, động mạch đùi. Sau khi cắm bơm tiêm máu sẽ tự chảy vào bơm tiêm do áp lực của máu động mạch lớn.

4. Chất chống đông

- Cần có sự lựa chọn khi sử dụng các chất chống đông. Các chất đông thường dùng:

▪ Amoniumheparinate 0,75 mg/1ml

▪ Lithiumheparinate 0,75mg/1ml

▪ Natriheparinate 0,75mg/1 ml

▪ EDTA 1mg/1 ml (Ethylen Diamin Tetra acetat)

▪ Citrate 5mg/1 ml

▪ Oxalat 2mg/1 ml (Natri Oxalat, Lithium Oxalat, Kali Oxalat)

▪ Natri fluorua (NaF) 2mg/1 ml

Chú ý:

- Đối với xét nghiệm pH máu, không dùng Heparin lỏng thường dùng chất chống đông là Lithium heparinat.

- Đối với xét nghiệm Glucose máu, dùng chất chống đông là Natri fluorua kết hợp với Kali Oxalat.

- Chất chống đông EDTA thường được dùng dưới dạng muối di natri EDTA hoặc di Kali EDTA. Không dùng chất chống đông này để lấy máu làm Kali hay Canxi, sắt...

- Không dùng Amonium heparinate khi định lượng Urê bằng phương pháp Enzym.

5. Các mẫu máu sử dụng trong phân tích

Có thể sử dụng máu toàn phần, huyết tương hoặc huyết thanh để tiến hành phân tích.

+ Máu toàn phần:

Là mẫu máu được lấy vào ống nghiệm có chất chống đông. Khi tiến hành làm xét nghiệm không phải ly tâm, chỉ cần lắc đều.

+ Huyết tương:

Là mẫu máu được lấy vào ống nghiệm có chất chống đông. Sau khi ly tâm ống máu sẽ được phân tách làm hai lớp.

- Lớp ở dưới là các thành phần hữu hình bao gồm hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu.

- Lớp ở trên có màu vàng nhạt, trong hơi đục nhẹ, đó chính là huyết tương.

+ Huyết thanh:

Là mẫu máu được lấy vào ống nghiệm không có chất chống đông. Sau khi ly tâm, ống máu sẽ được phân tách làm hai lớp:

- Lớp ở dưới là cục máu đông bao gồm hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu và sợi Fibrin.

- Lớp ở trên là huyết thanh

II. CÁC NGUYÊN NHÂN DẪN ĐẾN SAI SỐ KHI LẤY MÁU

1. Chế độ ăn

- Bệnh nhân cần nhịn ăn trước khi lấy máu để đảm bảo sự chính xác của các kết quả xét nghiệm.

- Sau khi ăn, hoặc sau khi ăn bữa thịnh soạn (nhiều đạm, lipid...) một số xét nghiệm sẽ tăng: Glucose, Cholesterol, Triglycerid, acid uric và hồng cầu, bạch cầu....

- Bệnh nhân nhịn đói lâu ngày thì Glucose sẽ giảm, Protid toàn phần giảm.

- Bệnh nhân có chế độ ăn ít đạm thì Urê sẽ giảm.

- Bệnh nhân nghiện rượu sẽ làm giảm Glucose và tăng GGT.

- Nồng độ cồn trong máu cao sẽ làm tăng độ thấm thấu của máu.

2. Stress

Bệnh nhân phải ở trong trạng thái sinh lý bình thường, các stress cũng có ảnh hưởng lớn đến các kết quả xét nghiệm. Ví dụ: Glucose, Cortisol....

3. Nhiệt độ

- Nếu lấy máu lúc bệnh nhân đang ngất thì xét nghiệm pH giảm, pO₂ tăng, pCO₂ tăng. Ngược lại nếu lấy máu lúc bệnh nhân đang hạ nhiệt độ thì pH tăng, pO₂ giảm, pCO₂ giảm.

4. Điều trị thuốc

- Bệnh nhân cần phải dừng dùng các loại thuốc vài ngày trước khi lấy máu làm xét nghiệm vì các loại thuốc có ảnh hưởng đến tình trạng sinh lý của bệnh nhân và làm nhiễu các phương pháp phân tích.

- Nhóm thuốc ảnh hưởng đến sinh lý của bệnh nhân:

- Thuốc lợi tiểu thiazid: Làm ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm Lipid.

- Thuốc tránh thai: Làm giảm nồng độ của Hormon và thay đổi nồng độ của Protein gắn với Hormon

- Nhóm thuốc gây nhiễu phương pháp xét nghiệm.

- Paracetamol:

- Salicylat

5. Tan huyết

Hiện tượng tan huyết sẽ có ảnh hưởng lớn đến kết quả của một số xét nghiệm. Ví dụ: Kali, GOT, GPT, LDH... vì nồng độ của các chất này trong hồng cầu cao hơn rất nhiều lần nồng độ trong huyết thanh.

Các mẫu huyết thanh đục, mẫu huyết thanh vàng (Bilirubin tăng cao) đều có ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

Chú ý:

- + Việc nhầm lẫn mẫu máu, nhầm tên bệnh nhân gây sai sai số nghiêm trọng kết quả của bệnh nhân này sang kết quả của bệnh nhân kia. Do vậy cần chú ý kiểm tra, đối chiếu tên, tuổi, khoa, phòng, giường.....
- + Không lấy mẫu máu khi đang truyền dịch, tiêm thuốc...
- + Không chắt ống máu từ ống có chất chống đông này sang chất chống đông khác gây sai số kết quả xét nghiệm: ví dụ: ống máu có chất chống đông EDTA sang ống heparin gây sai kết quả xét nghiệm Kali, Canxi, sắt...
- + Không lấy mẫu máu khi bệnh nhi vừa bơm sữa nuôi dưỡng qua ống sonde hoặc uống sữa.. kết quả xét nghiệm glucose sai...

III. BẢO QUẢN MÁU

3.1. Mẫu máu sau khi lấy

Mẫu máu sau khi đã lấy cần phải gửi ngay tới phòng xét nghiệm.

- Để yên mẫu máu trong vòng 30 phút.
- Sau đó dùng que tách máu nhẹ nhàng tách cục đông ra khỏi huyết thanh.
- Ly tâm 3000 - 4000 vòng/5-7 phút và chắt huyết thanh để tiến hành xét nghiệm.
- Hầu hết tất cả các xét nghiệm đều phải được tiến hành trên huyết thanh tươi.
- Mẫu máu để làm Glucose cần được lấy vào ống có chất chống đông, nếu không có chất chống đông Glucose sẽ giảm 7% trong vòng 1 giờ đầu sau khi lấy máu.

3.2. Mẫu huyết thanh, huyết tương

Tùy theo từng loại xét nghiệm mà thời gian bảo quản dài hay ngắn: Có những xét nghiệm phải làm ngay trong những giờ đầu. Có những xét nghiệm ổn định

hàng năm khi bảo quản ở nhiệt độ âm sâu. Huyết thanh, huyết tương sau khi tách xong cần bảo quản trong ống efdon có nắp kín.

- Glucose, CK-MB, Bilirubin, NH₃, ethanol.... phải được tiến hành xét nghiệm trên huyết thanh/huyết tương tươi.

- Mẫu máu đo pH nếu chưa đo ngay cần phải bảo quản trong nước đá có nhiệt độ từ 0⁰ - 4⁰C.

- Một số xét nghiệm nếu chưa làm ngay được thì phải bảo quản ở nhiệt độ 0- 4⁰C.

- Muốn bảo quản mẫu máu lâu hơn thì cần phải bảo quản ở nhiệt độ -20⁰C. Khi làm chảy đông các mẫu máu này thì phải để chảy đông từ từ, trộn đều trước khi phân tích và chỉ sử dụng một lần.

B. CÁCH LẤY VÀ BẢO QUẢN NƯỚC TIỂU

I. CÁCH LẤY NƯỚC TIỂU, DỊCH

- Cần phải lấy nước tiểu chính xác và đúng quy cách để làm xét nghiệm.

- Phần lớn các xét nghiệm được thực hiện trên mẫu nước tiểu ban đầu vào buổi sáng sớm. Mẫu nước tiểu này đã được tích tụ lâu trong bàng quang nên: không phụ thuộc vào chế độ ăn uống và sự hoạt động của cơ thể lúc ban ngày. Khi hứng nước tiểu nên bỏ phần đầu của bãi nước tiểu.

- Trong những trường hợp đặc biệt cần thiết phải lấy nước tiểu 24h. Ví dụ: phải định lượng Protein niệu 24h ở những bệnh nhân bị bệnh thận, Acid uric niệu, amylase niệu... hoặc định lượng một số nội tiết tố.

- Cách lấy nước tiểu 24h: bỏ bãi nước tiểu đầu trên vào buổi sáng sớm vào lúc 6h sáng. Bắt đầu hứng nước tiểu vào bình sạch (có chất bảo quản nước tiểu) từ bãi thứ hai trở đi cho đến 6h sáng hôm sau, đi tiểu lần cuối cùng vào bình. Sau đó trộn đều, đong số lượng nước tiểu và gửi mẫu nước tiểu 24h tới phòng thí nghiệm.

- Lấy mẫu nước tiểu bất kỳ trong ngày thường được sử dụng khi nghi ngờ có các chất bất thường trong nước tiểu như Protein, Glucose...

- Dịch sử dụng trong hóa sinh thường là dịch chọc dò màng bụng, màng phổi, màng tim....dịch não tủy. Chú ý khi chọc dịch tránh tọc vào mạch máu gây hiện tượng dịch lẫn máu, gây sai số cho kết quả.

II. NHỮNG ĐIỀU CẦN CHÚ Ý KHI LẤY NƯỚC TIỂU

- Bình đựng nước tiểu phải tuyệt đối sạch, không có các chất tiết trùng, tẩy rửa, không có các chất oxy hóa gây dương tính giả. Đối với các xét nghiệm vi sinh vật thì bình đựng nước tiểu phải được tiệt trùng. Khi lấy nước tiểu 24h bình phải có nắp đậy kín để tránh hiện tượng bay hơi.

- Có thể sử dụng các chất bảo quản để lấy nước tiểu 24h: Thymol, Clorofoc, Formon, Acid Chlohydric, acid acetic tinh khiết, toluen...

- Đối với bệnh nhân: ngừng dùng các loại thuốc, tránh các hoạt động thể lực mạnh.

- Trước khi lấy mẫu nước tiểu phải vệ sinh bộ phận sinh dục sạch sẽ.

III. BẢO QUẢN NƯỚC TIỂU, DỊCH

- Mẫu nước tiểu sau khi hứng được chậm nhất là 4h phải được gửi tới phòng xét nghiệm. Nếu để lâu nước tiểu sẽ bị lên men thối bởi các vi khuẩn. Nhiệt độ cao cũng dễ làm hỏng các mẫu nước tiểu.

- Bảo quản kéo dài mẫu nước tiểu sẽ dẫn đến các chất hữu cơ trong nước tiểu sẽ bị phân hủy. Urê bị phân hủy tạo thành NH_4 và do đó làm tăng độ pH của nước tiểu. Các tế bào hồng cầu và bạch cầu sẽ bị biến dạng, các chất vô cơ và một số các chất hữu cơ khác cũng bị phân hủy.

- Mẫu nước tiểu nếu chưa được phân tích ngay cần được bảo quản ở nhiệt độ từ 2°C - 8°C .

- Nếu không dùng các chất bảo quản nước tiểu thì mẫu nước tiểu cần được để ở nơi thoáng mát hoặc bảo quản trong tủ lạnh.

- Dịch chọc dò lấy xong cần mang sớm lên phòng xét nghiệm Sinh hóa, mẫu cần được phân tích sớm ngay trong vòng 1 h đầu tránh hiện tượng giảm glucose trong dịch não tủy, nhiễm khuẩn do vi khuẩn môi trường.....

Câu hỏi lượng giá:

1. Bệnh nhân được lấy mẫu máu làm xét nghiệm ở bất kỳ thời điểm nào trong ngày. A. Đúng B. Sai

2. Không nên buộc ga rô quá lâu và chặt, không nên bơm và hút máu quá nhanh trong khi lấy máu. A. Đúng B. Sai

3. Hỗn hợp chống đông $\text{NaF} + \text{Kali Oxalat}$ được sử dụng cho xét nghiệm Glucose huyết. A. Đúng B. Sai

4. Sử dụng huyết tương chống đông bằng EDTA cho xét nghiệm Natri và Kali.

A. Đúng

B. Sai.

5. Xét nghiệm nào bị ảnh hưởng bởi chất chống đông EDTA

A. Canxi

B. Kali

C. Cả hai chất: K, canxi

6. Tình trạng huyết thanh, huyết tương (huyết thanh đục, vỡ hồng cầu, bilirubin tăng cao) bị ảnh hưởng đến xét nghiệm

A. Đúng

B. sai

7. Chất chống đông nào thường sử dụng trong xét nghiệm hóa sinh

A. Heparin

B. EDTA, citrat

C. Kali oxalate

8. Cần kiểm tra tình trạng mẫu máu (số lượng, màu sắc và hiệu quả ly tâm) trước sinh đặt vào máy phân tích

A. Đúng

B. Sai.

9. Mẫu nước tiểu bất kỳ trong ngày là mẫu phản ánh chính xác nhất nồng độ các chất có trong nước tiểu.

A. Đúng

B. Sai

10. Cần phải lấy nước tiểu 24h đối với các xét nghiệm định lượng.

A. Đúng

B. Sai

11. Lựa chọn chất bảo quản nước tiểu:

A. Acid HCl

B. Acid acetic

C. Thymol 10%

D. Toluene

E. Các loại trên đều đúng

12. Nhiệt độ bảo quản nước tiểu:

A. 2-8°C

B. 20- 25 °C

C. Nhiệt độ phòng

13. Cách lấy nước tiểu 24 h

A. lấy 24h

B. lấy từ 6h sáng hôm nay đến 6h sáng mai.

C. Bỏ bã nước tiểu đầu tiên lúc 6h. Lấy từ 6h sáng hôm nay đến 6h sáng mai (lấy bã nước tiểu cuối cùng vào bình).

14. Các xét nghiệm hóa sinh dịch chọc dò:

a. Glucose não tủy

b. Clo não tủy

c. Định lượng protein

d. Phản ứng rivalta

f. Tất cả các xét nghiệm trên

Bài 3: AN TOÀN SINH HỌC TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM

TS.BS Lê Thị Hương Lan

Mục tiêu bài học:

1. Trình bày được được một số khái niệm liên quan đến an toàn sinh học phòng xét nghiệm.
2. Các yếu tố nguy cơ và biện pháp phòng ngừa lây nhiễm tác nhân gây bệnh trong phòng thí nghiệm.
3. Trình bày được tiêu chuẩn của phòng xét nghiệm ATSH cấp I và cấp II

NỘI DUNG

I. Khái niệm:

1.1. Khái niệm liên quan đến an toàn sinh học

- An toàn sinh học(biosafety): là thuật ngữ được sử dụng để mô tả các nỗ lực làm giảm hoặc loại trừ các nguy cơ tiềm tàng của công nghệ sinh học và các sản phẩm của nó.
- An toàn sinh học phòng xét nghiệm là thuật ngữ được sử dụng để mô tả những nguyên tắc, kỹ thuật và thực hành cần thiết để ngăn ngừa những nguy cơ phơi nhiễm không mong muốn hoặc vô tình làm thất thoát tác nhân gây bệnh (TNGB) và độc tố.
- Tác nhân sinh học (Agent): gồm các vi sinh vật và các sinh vật biến đổi gen, ký sinh trùng trên người có khả năng gây ra nhiễm trùng, dị ứng hoặc gây độc.
- Hàng rào bảo vệ thứ nhất (primary barriers): tủ An toàn sinh học (ATSH), trang bị bảo hộ cá nhân, dụng cụ pipet, hộp đựng chất thải sắc nhọn, cốc ly tâm an toàn, bơm kim tiêm tự khóa.
- Hàng rào bảo vệ thứ 2 (secondary barriers): cơ sở vật chất, thiết kế phòng xét nghiệm(hệ thống hút khí, thông khí, dòng định hướng áp xuất, áp suất âm, bồn rửa tay, vòi rửa mắt, cửa tự đóng, nồi hấp thiết trùng..).

1.2. Phân loại vi sinh vật gây bệnh theo nhóm nguy cơ

- Để đánh giá mức độ nguy hiểm của vi sinh vật gây bệnh truyền nhiễm đối với nhân viên phòng xét nghiệm và môi trường xung quanh, Tổ chức Y tế thế giới

đã phân chia các loại VSV gây bệnh truyền nhiễm này thành 4 nhóm nguy cơ dựa vào:

- + Khả năng gây bệnh của VSV
- + Liều lây nhiễm
- + Đường lây truyền
- + Yếu tố vật chủ
- Sự sẵn có (chuẩn bị) của các biện pháp phòng ngừa và khả năng điều trị bệnh.

+ *Nhóm nguy cơ 1*: là nhóm chưa hoặc ít khả năng gây bệnh cho cá thể và cộng đồng, bao gồm các VSV chưa phát hiện thấy khả năng gây bệnh cho người.

+ *Nhóm nguy cơ 2*: Là nhóm có nguy cơ lây nhiễm cho cá thể ở mức độ trung bình, nhưng nguy cơ lây nhiễm cho cộng đồng thấp bao gồm các vsv có khả năng gây bệnh nhưng ít gây bệnh nặng cho người, có khả năng lây truyền sang người và có biện pháp phòng, chống lây nhiễm, điều trị hiệu quả trong trường hợp mắc bệnh.

Ví dụ: viêm gan B, salmonella.....

+ *Nhóm nguy cơ 3*: là nhóm có nguy cơ lây nhiễm cao cho cá thể, nhưng nguy cơ cho cộng đồng ở mức độ trung bình bao gồm các VSV có khả năng gây bệnh nặng cho người, có khả năng lây truyền sang người và có biện pháp phòng chống, chống lây nhiễm, điều trị hiệu quả trong trường hợp mắc bệnh.

Ví dụ: Vi khuẩn lao, virus hanta, cúm A/H5N1, SARS VÀ HIV.....

+ *Nhóm nguy cơ 4*: là nhóm có nguy cơ lây nhiễm cho cá thể và cộng đồng ở mức độ cao bao gồm các loại VSV có khả năng gây bệnh cho người, có khả năng lây truyền sang người và chưa có biện pháp phòng, chống lây nhiễm, điều trị trong trường hợp mắc bệnh. Ví dụ virus EBOLA...

1.3. Lý do phải bảo đảm an toàn sinh học trong phòng xét nghiệm

Tại Việt Nam, theo nghị định số 92/2010/NĐ-CP, có 4 cấp độ ATSH của phòng xét nghiệm đó là cấp I, II, III, IV.

Nguy cơ tiềm ẩn có thể xảy ra trong phòng xét nghiệm như việc lây nhiễm tác nhân gây bệnh (TNGB) cho nhân viên phòng xét nghiệm, các thương tích

vật sắc nhọn, điện, cháy nổ, hay nhiễm các hóa chất độc hại, chất phóng xạ ion hóa....

Nhân viên phòng xét nghiệm có thể bị lây nhiễm với các VSV gây bệnh truyền nhiễm qua 4 đường lây nhiễm thông thường, bao gồm: hô hấp, tiêu hóa, d, niêm mạc và máu, vết thương...

An toàn sinh học trong phòng xét nghiệm là yêu cầu bắt buộc theo luật, nghị định và các thông tư của bộ y tế.

II. Lây nhiễm liên quan đến phòng xét nghiệm

2.1. Các yếu tố liên quan đến lây nhiễm phòng xét nghiệm

Tình hình lây nhiễm liên quan đến phòng xét nghiệm đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu tại Mỹ. Giai đoạn 1979 đến 2004 Harding và Byers đã thống kê được 1448 trường hợp lây nhiễm có triệu chứng và 708 trường hợp không có triệu chứng. trong các trường hợp đó có 36 trường hợp tử vong và 17 trường hợp lây nhiễm thứ phát. Vi khuẩn và virus chiếm 83% các trường hợp được biết. Nếu gộp cả lây nhiễm rickettsia và vi khuẩn thì 96% các trường hợp lây nhiễm liên quan đến phòng xét nghiệm đều nguyên nhân từ vi khuẩn hay virus.

- Các yếu tố liên quan đến lây nhiễm trong phòng xét nghiệm bao gồm: đặc điểm của tác nhân gây bệnh, đường lây, vật chủ và môi trường PXN thông khí, trang thiết, quy trình).

- Tác nhân gây bệnh có thể lây nhiễm cho người làm việc trong phòng xét nghiệm thông qua 4 con đường chủ yếu: hô hấp, da, niêm mạc, máu và vết thương. Các nguyên nhân liên quan đến 4 đường lây nhiễm được liệt kê như sau:

Bảng 1 : Đường lây nhiễm và nguyên nhân thường gặp

Đường lây nhiễm	Nguyên nhân thường gặp
Tiêu hóa	- Hút bằng miệng - Văng bắn các vật liệu nhiễm trùng vào miệng - Đưa các đồ vật hoặc tay bị nhiễm bẩn lên miệng - Ăn uống trong phòng xét nghiệm
Máu, vết thương	- Vết thương do động vật sắc nhọn (kim tiêm, mảnh vỡ thủy tinh...), động vật hoặc côn trùng cắn, cào, đốt...
Da, niêm mạc	- Đổ vỡ, hoặc văng bắn vật liệu vào mắt, mũi, miệng - Đổ vỡ, văng bắn vào da - Tiếp xúc với các bề mặt, thiết bị, vật liệu lây nhiễm trong phòng xét nghiệm.
Hô hấp	Các quy trình kỹ thuật có tạo khí dung *

- Khí dung (aerosol) là các hạt lơ lửng trong không khí. Phần lớn các quy trình kỹ thuật trong phòng xét nghiệm đều tạo ra khí dung; hút bệnh phẩm, trộn bệnh phẩm bằng pipet, ly tâm mẫu máu không dây nắp, dơi bắn các giọt dung dịch chứa tác nhân gây bệnh....

2.2. Các biện pháp phòng ngừa, giảm lây nhiễm liên quan đến phòng xét nghiệm.

- Đánh giá nguy cơ xảy ra trong phòng xét nghiệm.
- Trang bị đầy đủ các điều kiện về cơ sở vật chất, trang thiết bị: phòng ốc đảm bảo; có hệ thống thông khí tiêu chuẩn; trang bị bảo hộ cá nhân; trang bị tủ an toàn sinh học.
- Đào tạo, tập huấn nhân viên PXN về kỹ thuật xét nghiệm, và ATSH phòng xét nghiệm.
- Xây dựng và tuân thủ các quy trình xét nghiệm, qui trình ATSH.
- Tiêm phòng vacxin hoặc sử dụng thuốc phòng bệnh nếu có.
- Ghi chép, báo cáo sự cố xảy ra trong phòng xét nghiệm.

III. Các yêu cầu đối với phòng xét nghiệm sinh học cấp I và cấp II

3.1. Phòng xét nghiệm an toàn sinh học cấp I

- Sử dụng để làm việc với tác nhân gây bệnh thuộc nhóm nguy cơ 1 và các sản phẩm từ VSV thuộc nhóm khác nhưng được xử lý và không còn khả năng gây bệnh như VSV sau khi đã được bất hoạt AND, ARN tách chiết từ VSV...
- Tiêu chuẩn phòng xét nghiệm an toàn sinh học cấp I (nghị định 92/2010/NĐ – CP của chính phủ và thông tư 25/2012/TT-BYT của bộ Y tế ban hành qui chuẩn kỹ thuật quốc gia về thực hành và ATSH tại phòng xét nghiệm).

3.1.1 Cơ sở vật chất:

- a) có diện tích tối thiểu 12 m² (không bao gồm diện tích để thực hiện các công việc hành chính liên quan đến xét nghiệm).
- b) Yêu cầu kỹ thuật đối với cửa đi, cửa sổ:
 - Cửa đi: có khuôn, chốt, khóa an toàn; cánh cửa bằng gỗ hoặc vật liệu tổng hợp hoặc kim loại kết hợp với kính trong.
 - Cửa sổ: có khuôn, chốt, khóa an toàn; cánh cửa bằng gỗ hoặc vật liệu tổng hợp hoặc kim loại kết hợp với kính trong. Hoặc mờ để chiếu sáng tự nhiên.
- c) Yêu cầu kỹ thuật đối với sàn, tường và trần của phòng xét nghiệm
 - Sàn không chênh cốt, không có gờ của đảm bảo phẳng, nhẵn không trơn trượt, chịu được hóa chất, chống thấm và dễ cọ rửa vệ sinh.
 - sàn bên trong các phòng rửa tiệt trùng, chuẩn bị mẫu phải có chỗ thu nước khi cọ, rửa.
 - Giao tuyến của sàn, tường đảm bảo dễ vệ sinh, chống đọng
 - Tường bằng phẳng, dễ lau chùi, không thấm nước và chống được các loại hóa chất thường dung trong phòng XN.
 - Trần bằng phẳng, nhẵn, chống thấm và lắp đặt được các thiết bị (chiếu sáng, phòng cháy, chữa cháy, điều hòa không khí hoặc các thiết bị khác).
- d) Mặt bàn xét nghiệm: không thấm nước, chịu được các dung dịch khử trùng, acid, kiềm, dung môi hữu cơ và nhiệt....
- e) Chỗ để quần áo và đồ dùng cá nhân cho nhân viên PXN ở bên ngoài và chỗ treo quần áo công tác (áo choàng, blue) ở bên trong, gần cửa ra vào phòng xét nghiệm.

f) Phòng xét nghiệm phải đảm bảo đủ ánh sáng cho các hoạt động: 400 lux (trong khu vực xét nghiệm); 250 lux (khu rửa, tiệt trùng, chuẩn bị mẫu, môi trường) và khu vực hành chính và phụ trợ là 140 lux.

g) Có bồn rửa tay, có khăn giấy sử dụng một lần hoặc khăn lau tay sạch...

h) có thiết bị rửa mắt, hộp sơ cứu tại vị trí thuận lợi cho sử dụng hệ thống điện đảm bảo an toàn

- Có nguồn điện thay thế

- Hệ thống dây dẫn và thiết bị kiểm soát, cung cấp điện phải đảm bảo thông số kỹ thuật(công suất, chất lượng..)

- Có hệ thống bảo vệ quá tải

- Tiếp đất toàn bộ hệ thống

- Cấm ổ điện phải cao hơn nền phòng xét nghiệm ít nhất 40 cm, không gần vòi nước

i) Khu vực có tia cực tím, tia laze, chất phóng xạ, chất độc phải có các biển báo tương ứng.

j) Có các thiết bị phòng cháy, chữa cháy theo qui định.

3.1.2. Trang thiết bị

a. Các thiết bị xét nghiệm phù hợp với kỹ thuật và loại VSV được xét nghiệm

b. Các thiết bị phải gián nhãn, có đủ thông tin

c. Khi vận hành phải đảm bảo các thông số kỹ thuật do nhà sản xuất

d. Có dụng cụ chứa chất thải đảm bảo tiêu chuẩn quy định đối với từng loại chất thải.

e. Có thiết bị khử trùng dụng cụ và bệnh phẩm

f. Trang bị bảo hộ cá nhân phù hợp với kỹ thuật xét nghiệm

g. Trường hợp phòng xét nghiệm có sử dụng hóa chất độc hại dễ bay hơi thì trang bị thêm tủ hút hóa chất cho phòng xét nghiệm.

3.1.3 Nhân sự:

a. Có ít nhất 2 nhân viên

b. Trước và trong quá trình làm việc tại phòng XN nhân viên phải được khám sức khỏe định kỳ theo hướng dẫn tại thông tư số 19/2011/TT-BYT ngày 6 tháng 6 năm 2011 của Bộ trưởng Bộ Y tế về hướng dẫn quản lý vệ sinh lao động sức khỏe người lao động bệnh nghề nghiệp.

- c. Được đào tạo về ATSH phòng xét nghiệm và ATSH cấp I trở lên.
- d. Được đào tạo tập huấn về an toàn lao động, phòng cháy, chữa cháy
- e. Nhân viên phải được đào tạo về chuyên ngành phù hợp có chứng chỉ được đào tạo KT xét nghiệm thực hiện tại phòng xét nghiệm.
- f. Nhân viên phải được đào tạo lại hàng năm theo thông tư 07/2008/TT-BYT ngày 28 tháng 5 năm 2008 của Bộ trưởng BYT.

3.1.3. Quy định về thực hành:

* Qui định ra vào phòng xét nghiệm:

Chỉ những người có trách nhiệm mới được phép vào phòng xét nghiệm.

* Qui định về thực hành an toàn trong phòng xét nghiệm:

a. Có và tuân thủ qui trình xét nghiệm, hướng dẫn sử dụng trang thiết bị và qui trình xử lý chất thải:

b. Không hút pipet bằng miệng

c. Không dùng bơm kim tiêm, để thay thế pipet hoặc bất kỳ mục đích gì khác ngoài mục đích tiêm truyền. Bơm kim tiêm sau khi sử dụng phải được cho vào hộp đựng vật sắc nhọn

d. Rửa sạch tay, vùng da tiếp xúc với các chất hóa học trước khi rời khỏi phòng xét nghiệm.

e. Đi dày, dép, mặc quần áo bảo hộ trong phòng xét nghiệm, không mặc quần áo bảo hộ ra khu vực công cộng.

f. Không để chung quần áo bảo hộ với quần áo thông thường

g. Không mang đồ dùng cá nhân, thực phẩm vào phòng xét nghiệm

h. Không sử dụng thiết bị phòng xét nghiệm để cất trữ, chế biến thực phẩm.

i. Không ăn uống, hút thuốc, cạo râu trong phòng xét nghiệm

3.1.4. Khử nhiễm và xử lý chất thải

a. Phải khử nhiễm bàn làm việc ngay sau khi kết thúc xét nghiệm, vào cuối ngày làm việc và khi có sự cố tràn, đổ mẫu bệnh phẩm chứa tác nhân gây bệnh.

b. Phân loại, vận chuyển và xử lý rác thải theo quyết định số 43/2007/QĐ- BYT của Bộ Y tế.

3.1.5. Phòng ngừa, xử lý và khắc phục sự cố an toàn sinh học

- Cơ sở có phòng xét nghiệm ATSH có trách nhiệm:

+ Đánh giá nguy cơ xảy ra sự cố

- + Xây dựng kế hoạch phòng ngừa, xử lý sự cố ATSH
- + Đào tạo, tập huấn cho nhân viên về các biện pháp phòng ngừa và xử lý sự cố.
- + Phải có qui trình xử lý sự cố
- Khi xảy ra sự cố ATSH, cơ sở có phòng xét nghiệm có trách nhiệm:
- Khẩn trương huy động nhân lực, trang thiết bị để xử lý sự cố theo kế hoạch phòng ngừa, xử lý sự cố ATSH và quy trình xử lý sự cố.
- Đối với sự cố ít nghiêm trọng, cơ sở có phòng xét nghiệm phải lập biên bản về xử lý, khắc phục sự cố và lưu hồ sơ ít nhất 3 năm.
- Đối với sự cố nghiêm trọng, cơ sở xét nghiệm phải báo cáo sự cố và các biện pháp áp dụng để xử lý khắc phục sự cố với Sở Y tế
- Sau khi đã xử lý, khắc phục sự cố ATSH, cơ sở có phòng xét nghiệm phải tiến hành kiểm điểm, phân tích nguyên nhân xảy ra sự cố và sửa đổi, bổ sung kế hoạch phòng ngừa, xử lý sự cố ATSH.

3.2. Phòng xét nghiệm an toàn sinh học cấp II

Phòng ATSH cấp II thường được sử dụng nghiên cứu, chẩn đoán các xét nghiệm các TNGB thuộc nhóm nguy cơ nhóm II và các xét nghiệm sử dụng trong phòng xét nghiệm ATSH cấp I. Ngoài ra, PXN ATSH cấp II cũng được sử dụng để tiến hành một số xét nghiệm với tác nhân gây bệnh nhóm nguy cơ 3. Thông tư số 07/2012/TT-BYT quy định chi tiết danh mục VSV và các kỹ thuật xét nghiệm được tiến hành trong phòng XN ATSH cấp II. Các yêu cầu được qui định cụ thể trong nghị định cụ thể trong Nghị định số 92/2010/NĐ –CP của chính phủ và thông tư số 25/2012/TT-BYT của Bộ Y tế.

Câu hỏi lượng giá:

Câu 1: Lựa chọn nhóm nguy cơ phù hợp của các VSV dưới đây (đánh dấu √ vào ô tương ứng).

STT	Tác nhân gây bệnh	Nhóm nguy cơ			
		1	2	3	4
1	Virus cúm A/H5N1				
2	Virus viêm gan B				
3	Virus viêm gan C				
4	HIV				
5	Trực khuẩn tả				
6	Rotavirus				

Câu 2: Các yếu tố chính để đảm bảo An toàn sinh học

1. Cơ sở vật chất
2. Nhân sự
3. Giám sát Y tế
4. Xử lý chất thải y tế
5. Trang thiết bị
6. Thực hành
7. Phòng ngừa và xử lý khắc phục sự cố
8. Đào tạo

Câu 3: Hàng rào bảo vệ thứ nhất là:

- a. Phòng xét nghiệm
- b. Tủ ATSH
- c. Nồi hấp tiệt trùng
- d. Trang bị bảo hộ cá nhân
- e. Hệ thống thông khí.

Câu 4; Hàng rào bảo vệ ATSH thứ 2 là:

- a. Phòng xét nghiệm
- b. Tủ ATSH
- c. Nồi hấp tiệt trùng
- d. Trang bị bảo hộ cá nhân
- e. Hệ thống Thông khí

Câu 5: Các tác nhân nào dưới đây gây ra nhiều trường hợp lây nhiễm liên quan đến phòng xét nghiệm nhất?

- a. Ký sinh trùng và vi khuẩn
- b. Vi khuẩn và virus
- c. Virus và nấm.

Câu 6: Chọn đường lây nhiễm chủ yếu của tác nhân gây bệnh đối với con người.

- a. Hô hấp
- b. Tiêu hóa
- c. Da, niêm mạc
- d. Vết thương
- f. Tất cả các ý trên

Câu 7: Đường lây nhiễm nào sau đây thường dẫn đến lây nhiễm liên quan đến phòng xét nghiệm nhất.

- a. Hít phải các hạt khí dung được tạo ra do các sự cố/ các thao tác/ qui trình xét nghiệm
- b. Do động vật cắn, cào
- c. Ăn, uống trong phòng xét nghiệm
- d. Tiếp xúc da, niêm mạc với các bề mặt, dụng cụ lây nhiễm.

**Bài 4: PHƯƠNG PHÁP ĐO QUANG
SỬ DỤNG TRONG HÓA SINH LÂM SÀNG**

Mục tiêu bài học:

1. Trình bày được bản chất của phép đo quang
2. Ứng dụng phép đo quang trong xét nghiệm hóa sinh lâm sàng

1. Đại cương: Dựa vào định luật Lambert- Beer là định luật cơ bản về sự hấp thụ ánh sáng người ta đã sử dụng phương pháp phân tích xác định nồng độ các chất trong dung dịch dựa vào sự hấp thụ ánh sáng gọi là đo mật độ quang. Có 2 phương pháp dựa trên sự hấp thụ ánh sáng:

+ Phương pháp quang phổ hấp thụ: phương pháp sử dụng ánh sáng đơn sắc (phương pháp này có độ chính xác cao hơn). Theo định luật Lambert Beer thì thực nghiệm chỉ đúng khi sử dụng ánh sáng đơn sắc.

+ Phương pháp đo quang: phương pháp dùng ánh sáng thường được lọc qua kính màu (kính lọc) để có các bức xạ nằm trong một khoảng hẹp về độ dài sóng. Trong thực tế, trong thực hành lâm sàng thường gặp định lượng các chất không theo đúng định luật Lambert Beer. Đối với những chất này người ta thường dùng phương pháp đường chuẩn mật độ quang.

1. Định luật Lambert Beer.

Là định luật cơ bản về sự hấp thụ ánh sáng của các dung dịch.

Định luật được biểu thị bằng phương trình:

$$I = I_0 \times E^{-kCl}$$

Trong đó: I_0 ; là cường độ ánh sáng tới;

I : là cường độ ánh sáng sau khi đi qua dung dịch

l : bề dày của lớp dung dịch;

K : là hệ số hấp phụ;

C : là nồng độ chất hòa tan trong dung dịch

E : Số tự nhiên nepe.

Biểu thị định luật Lambert – Beer theo loga tự nhiên, ta có :

$$\lg \frac{I_0}{I} = k.c.l$$

$\lg I_0/I$ được gọi là mật độ quang của dung dịch thường được ký hiệu bởi chữ D , E hoặc A . Do vậy, ta có :

$$D = k.c.l$$

Trong đó : k là hằng số đối với mỗi chất, như vậy nồng độ mỗi chất hòa tan trong dung dịch sẽ phụ thuộc vào mật độ quang của phép đo.

2. Các phương pháp đo quang

2.1. Phương pháp quang phổ hấp thụ

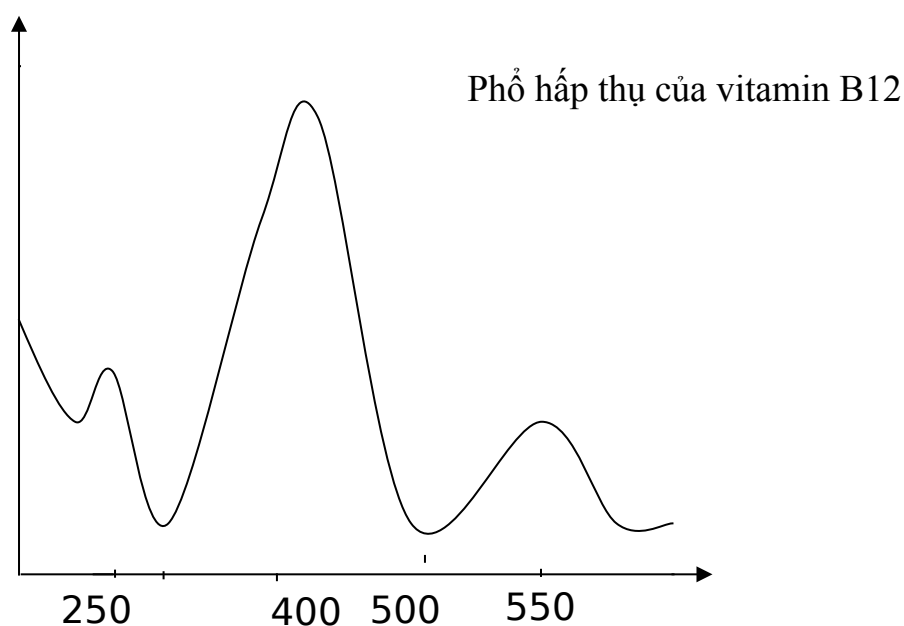
- Nguyên lý: Định tính, định lượng một chất bằng cách thiết lập phổ hấp thụ của chất đó. Phổ hấp thụ là đồ thị biểu diễn mật độ quang- độ dài sóng.

-Tiến hành:

+ Thiết lập phổ hấp thụ bằng cách đo mật độ quang của một dung dịch, một chất có nồng độ nhất định với các bức xạ có độ dài sóng tán dần.

+ Vẽ đồ thị mật độ quang độ dài sóng ta sẽ có phổ hấp thụ của chất đó trên phổ hấp thụ ta sẽ thấy điểm cực đại hấp thụ ứng với các độ dài sóng mà ở đó sự hấp thụ là cực đại. Các chất khác nhau có phổ hấp thụ khác nhau.

+ Ứng dụng: sử dụng để định tính, định lượng các chất hoặc thử độ tinh khiết.



2.2. Phương pháp đo quang

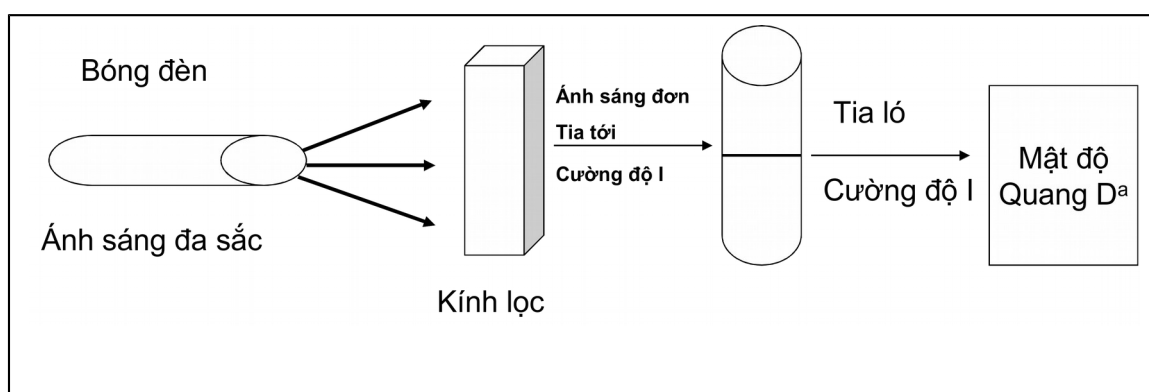
- Nguyên lý: Dùng ánh sáng lọc qua các kính lọc màu. Trong phương pháp này người ta thường dùng phương pháp đường cong chuẩn. Người ta pha chế dung dịch có nồng độ nhất định hoặc lên màu phản ứng nhờ các thuốc thử thích hợp rồi đo mật độ quang của các dung dịch này và thiết lập đường

chuẩn, mật độ quang – nồng độ. Từ đó xác định nồng độ chất cần đo. Sai số trong phép đo thường không quá 2%.

Các thiết bị đo quang (quang phổ hấp thụ hoặc đo quang - Máy sinh hóa) có nguyên lý hoạt động dựa vào hiệu điện. “Hiệu ứng quang điện là hiện tượng electron bị bật ra khỏi nguyên tử dưới tác động của chùm tia sáng chiếu vào chất đó”. Tế bào quang điện hoặc ống nhân quang là những dụng cụ trong đó quang năng được truyền thành điện năng. Đo được dòng quang điện sẽ biết được mật độ quang của dung dịch cần đo.

3. Nguyên lý, cấu tạo máy đo quang

3.1. Mô tả quá trình dẫn truyền ánh sáng



Mật độ quang D_A là hiệu số giữa cường độ ánh sáng tia tới với cường độ ánh sáng tia ló: $D_A = I - i$

Theo định luật Lambert Beer có thể tính được nồng độ dung dịch cần đo.

$$C_{\text{thử}} = \frac{D_A \text{ thử}}{D_A \text{ mẫu}} \cdot C_{\text{mẫu}} = \frac{D_A \text{ thử}}{D_A \text{ mẫu}} = \text{Factor}$$

3.2. Nguyên lý đo quang

dựa trên nguyên lý quang phổ hấp thụ. Quang phổ hấp thụ là quá trình tương tác giữa hạt ánh sáng với các tiểu phân vật chất khi chiếu một chùm tia sáng gồm các photon có các mức năng lượng khác nhau đi qua một chất.

Ứng dụng quang phổ hấp thụ để nghiên cứu thành phần, cấu trúc của các chất. Phương pháp này đảm bảo độ nhạy độ chính xác và đặc biệt không cần tách

riêng các thành phần trong một hỗn hợp nhiều chất. Do vậy, ứng dụng phương pháp này ta có thể định tính, định lượng các chất.

Theo định luật Bouguer Lambert Beer chỉ đúng với trường hợp chất cần định lượng là dung dịch loãng: mật độ quang học tỷ lệ thuận với nồng độ chất có trong dung dịch

$OD_A = \varepsilon \cdot C_A \cdot L$ trong đó:

ε : hệ số dung dịch

D_A : Mật độ quang học của dung dịch;

C_A : Nồng độ của dung dịch

L : độ dày lớp dung dịch mà chùm tia sáng đi qua

(trong các thông số trên D_A chỉ phụ thuộc vào C_A ; do vậy nếu nồng độ dung dịch cần định lượng vượt quá giới hạn cho phép thì mật độ quang học không còn tuyến tính với nồng độ dung dịch. Do vậy, khi nồng độ dung dịch tăng phải pha loãng dung dịch kết quả thu được nhân với độ pha loãng)

4. Ứng dụng phép đo quang định lượng một số xét nghiệm trên máy bán tự động, tự động

4.1. Phép đo điểm cuối (end point)

- Là phép đo mật độ quang của dung dịch thử trong quá trình thực hiện phản ứng. Sau 1 khoảng thời gian T nhất định, phản ứng xảy ra hoàn toàn và kết thúc tạo ra phức hợp màu đặc trưng. Mật độ quang đo được tỷ lệ thuận với nồng độ dung dịch.

Chú ý:

- Với các phép đo quang, sử dụng kính lọc phù hợp là điều kiện bắt buộc. Với các chất tạo ra màu hồng cánh xen: sử dụng kính lọc 500-546nm; phức hợp màu xanh cây: 578-620nm.

- Riêng phép đo định lượng bilirubin phải sử dụng ống trắng bệnh phẩm – sample blank (màu vàng của bilirubin trong mẫu thử ảnh hưởng đến phép đo).

4.2. Phép đo động học 2 điểm (fixtime)

- Với những phép đo không xác định được điểm cuối chính xác, người ta đo mật độ quang tại thời điểm T_1 và T_2 , tính hiệu số mật độ quang rồi tính ra nồng độ chất cần đo. Ví dụ định lượng ure, creatinin...

4.3. Phép đo động học enzym (kinetic)

Thường sử dụng để xác định hoạt độ enzym. Phản ứng thường không tạo màu đặc trưng nhưng có sự thay đổi hoạt độ của chất cần đo trong khoảng thời gian nhất định. Vì vậy, việc xác định phải đo ở các thời điểm $T_1, T_2, T_3, 4, 5, \dots$, từ đó xác định mật độ quang trung bình.

Hoạt độ enzym = $D_a * K$

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Nêu nguyên lý phép đo quang
2. Viết công thức tính mật độ quang theo định luật LB
3. Vẽ đồ thị của phép đo điểm cuối, fixtime và kinetic

Bài 5: DUNG DỊCH VÀ CÁC CÁCH BIỂU THỊ NỒNG ĐỘ DUNG DỊCH

Mục tiêu bài học:

1. Trình bày được các cách biểu thị nồng độ dung dịch trong xét nghiệm hóa sinh.

2. Thực hiện được các cách chuyển đổi nồng độ dung dịch.

3. Trình bày được cách pha một dung dịch có nồng độ cho trước.

Nội dung:

1. Định nghĩa:

Nồng độ dung dịch là hỗn hợp đồng nhất của hai hay nhiều chất.

2. Nồng độ dung dịch:

Là lượng chất tan trong một trọng lượng hay một thể tích nhất định của dung dịch.

3. Các cách biểu thị nồng độ dung dịch:

3.1. Nồng độ bách phân - Nồng độ phần trăm: %

Là số gam chất tan có trong 100g dung dịch.

$$C\% = \frac{m}{m_1} \cdot 100 \quad (1)$$

C%: Nồng độ bách phân của dung dịch

m: trọng lượng chất tan (gam)

m₁: trọng lượng dung dịch (gam)

Nếu:

V: thể tích dung dịch (gam)

d: tỷ trọng của dung dịch

Ta có : $m_1 = V \cdot d$

Thay vào (1):

$$C\% = \frac{m}{V \cdot d} \cdot 100 \quad (2)$$

3.2. Nồng độ gam:

Là số gam chất tan có trong 1000ml

Cách biểu thị bằng số gam chất tan trong 1 ml dung dịch gọi là độ chuẩn T được dùng nhiều.

3.3. Nồng độ phân tử. M

Là số phân tử gam chất tan có trong 1L dung dịch.

$$C_M = \frac{m}{M \cdot V} \cdot 100 \quad (3)$$

C_M: nồng độ phân tử

m: lượng chất tan (gam)

M: phân tử lượng của chất tan

V: thể tích dung dịch

Ví dụ: Dung dịch NaOH 2M nghĩa là có 2 phân tử gam NaOH trong 1000ml dung dịch hay $2 \times 40g = 80g$ NaOH.

3.4. *Nồng độ đương lượng - Nồng độ nguyên chuẩn: N*

3.4.1. *Đương lượng gam:*

* Đương lượng

Đương lượng của 1 chất là trọng lượng của chất đó phản ứng vừa đủ với 1 đương lượng Hydro hay Oxy hay Cacbon hoặc với đương - lượng của bất kỳ một chất nào khác.

Đương lượng Hydro = 1.00797 đơn vị cacbon

Đương lượng Oxy : 7.9997 đơn vị cacbon

Đương lượng Cacbon = 3.00279 đơn vị cacbon

Nói cách khác:

- Trong phản ứng trao đổi, đương lượng của 1 chất là lượng chất đó tương ứng với 1 nguyên tử hydro trong phản ứng đó.

- Trong phản ứng oxy hóa khử, đương lượng của 1 chất là lượng chất đó tương ứng với 1 điện tử trao đổi trong phản ứng đó.

• Đương lượng gam của 1 trọng lượng của 1 đương lượng chất đó tính bằng gam.

$$E = \frac{M}{n} = (4)$$

E: đương lượng gam của chất tan

M: phân tử gam của chất tan

n: - Số điện tử do 1 phân tử trao đổi trong phản ứng oxy hóa - khử.

- Số ton H^+ hay OH^- của phân tử tham gia phản ứng

3.4.2. *Nồng độ đương lượng - Nồng độ nguyên chuẩn: N*

Là số đương lượng gam chất tan có trong 1000 ml dung dịch.

$$N = \frac{m}{E V} = (5)$$

N: Nồng độ đương lượng của dung dịch

E: Đương lượng gam của chất tan

m: trọng lượng của chất tan (gam)

v: Thể tích dung dịch (ml)

4. Cách pha một số dung dịch chuẩn:

4.1. *Dung dịch chuẩn:*

Dung dịch chuẩn là dung dịch có nồng độ được biết chính xác.

Nồng độ của các dung dịch chuẩn thường được biểu thị bằng nồng độ nguyên chuẩn N hay nồng độ phân tử gam M.

Nếu nồng độ của dung dịch không đúng với nồng độ lý thuyết thì cần tính thêm hiệu số hiệu chỉnh K. Hệ số này là tỷ số của nồng độ thực và nồng độ lý thuyết.

4.2. Phương pháp chung để pha các dung dịch chuẩn:

- Pha chế tự chất chuẩn độ gốc: Cân chính xác, hòa tan trong dung môi một lượng chất chuẩn gốc tương ứng với nồng độ cần pha.

- Pha gần đúng rồi chuẩn lại bằng chất chuẩn độ gốc khác. Việc chuẩn hóa này phải làm ít nhất 2 lần và kết quả của hai lần đó không được sai khác quá 0.2%; nếu sai khác quá 0.2%, phải làm lại cho đến khi đạt được độ chính xác đó.

- Pha loãng dung dịch chuẩn có nồng độ cao hơn.

- Dùng ống chuẩn pha sẵn.

Câu hỏi lượng giá:

1. Nồng độ gam là:

- a. Số gam chất tan có trong 100g dung dịch
- b. Số gam chất tan có trong 100ml dung dịch
- c. Số gam chất tan có trong 1000ml dung dịch

2. Cần bao nhiêu gam NaOH để pha 1500ml dung dịch NaOH 0,2M.

- a. 8 gam
- b. 10 gam
- c. 12 gam

Bài 6: NGUYÊN TẮC
VẬN HÀNH MÁY XÉT NGHIỆM NƯỚC TIỂU
Ths. Nguyễn Thu Giang

Mục tiêu bài học:

Sau khi học bài này học viên phải:

1. Trình bày được nguyên tắc vận hành, giá trị xét nghiệm và hoá chất sử dụng cho phân tích nước tiểu 10 thông số.
2. Thực hiện trên máy phân tích nước tiểu bán tự động

I. ĐẠI CƯƠNG

Hiện nay, việc xét nghiệm nước tiểu bằng kỹ thuật giấy thử sử dụng máy phân tích nước tiểu đã trở nên phổ biến. Nhờ có những tiến bộ về kỹ thuật như vậy nên xét nghiệm nước tiểu được tiến hành nhanh chóng thuận lợi và đỡ tốn nhiều công sức. Các loại máy xét nghiệm nước tiểu hiện nay được chia làm hai loại chính:

- Máy xét nghiệm nước tiểu bán tự động: Gồm nhiều loại như Uritek, Clinitek... với loại máy này việc lấy que thử, nhúng que thử vào bệnh phẩm, đặt que thử vào bàn đựng test đều phải làm bằng tay, máy chỉ giúp khâu đọc và in kết quả.

- Máy xét nghiệm nước tiểu tự động: Tất cả các công việc đều được tự động hoá. Người vận hành chỉ cần nạp mẫu thử vào bộ phận nạp bệnh phẩm máy sẽ tự hoàn thành việc phân tích và in ra kết quả. Máy phân tích nước tiểu tự động Ulysis 2400, Atlat của SIMEN...

Tuy vậy cả hai loại máy trên đều có chung một số điểm như sau:

1.1. Nguyên lý hoạt động

Máy đo hoạt động theo nguyên lý đo phản quang, bộ phận đo tiếp nhận tín hiệu phản quang đã bị hấp thụ một phần từ bề mặt các mảng đã bị chuyển màu trên que thử.

1.2. Thuốc thử

Ngoài việc có chung nguyên lý hoạt động thì cả hai loại máy tự động và bán tự động đều sử dụng một loại thuốc thử đó là thanh giấy thử. Thông thường là thanh giấy thử có 10 thông số.

1.3. Giá trị của kết quả phân tích nước tiểu:

Cả hai loại máy phân tích nước tiểu tự động và bán tự động đều sử dụng thanh giấy thử và cho ta kết quả có giá trị bán định lượng. Giá trị bán định lượng của kết quả xét nghiệm thể hiện ở chỗ các kết quả chỉ có những khoảng mà không có các giá trị liên tục giữa những khoảng đó. Ví dụ: Kết quả phân tích protein niệu bằng sử dụng giấy nhúng nước tiểu đọc trên máy bán tự động cho ta các khoảng là 0,1 g/l - 0,3 g/l - 1 g/l và 3 g/l. Nếu đọc trên máy tự động Urysis 2400 thì các khoảng là 0,25 g/l - 0,75 g/l - 1,5 g/l và 5 g/l (mà không có các giá trị liên tục như 0,25 - 0,26 - 0,27-.... - 5 g/l).

Đặc điểm, tính năng của từng máy, quy trình vận hành, những chú ý khi vận hành cũng như các màn hình làm việc của mỗi loại máy được giới thiệu trực tiếp trên máy.

II. MỘT SỐ CHÚ Ý KHI SỬ DỤNG MÁY PHÂN TÍCH 10 THÔNG SỐ

2.1. Bệnh phẩm:

- Nước tiểu phải được phân tích sớm, nếu để lâu cần bảo quản trong điều kiện 2-8°C.
- Nước tiểu có màu bất thường gây hiện tượng sai số của kết quả: nước tiểu máu, màu xanh,....

2.2. Kỹ thuật thực hiện:

- Thao tác chính xác, nhúng que thử ngập trong ống nước tiểu, gỡ nhẹ thanh thử bỏ phần nước tiểu thừa tránh hiện tượng lây nhiễm.
- Que thử cần bảo quản đúng, chia nhỏ hộp thanh thử để bảo quản thanh thử (nếu số lượng mẫu ít).
- Hệ thống bàn chuyển mẫu cần vệ sinh đúng thời gian, qui trình tránh lây nhiễm giữa các mẫu.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ:

1 Việc phân tích nước tiểu bằng thanh giấy thử 10 thông số tiến hành trên máy phân tích nước tiểu tự động cho ta kết quả có giá trị:

- a. Định tính
- b. Bán định lượng
- c. Định lượng

2. Việc phân tích nước tiểu bằng thanh giấy thử 10 thông số tiến hành trên máy phân tích nước tiểu bán tự động cho ta kết quả có giá trị:

- a. Định tính
- b. Bán định lượng
- c. Định lượng

3. Máy phân tích nước tiểu tự động và bán tự động hoạt động theo:

- a. Hai nguyên lý hoạt động khác nhau
- b. Có chung một nguyên lý hoạt động
- c. Có trường hợp chung nguyên lý, có trường hợp có nguyên lý khác nhau

4. Nguyên lý hoạt động của các máy phân tích nước tiểu là:

- a. Nguyên lý đo phản quang .
- b. Đo độ đục
- c. So màu

Bài 7: XÉT NGHIỆM HOÁ SINH DỊCH NÃO TUỖ, DỊCH CHỌC DÒ, XÉT NGHIỆM 10 THÔNG SỐ NƯỚC TIỂU

Ths. Nguyễn Thu Giang

Mục tiêu bài học:

Sau khi học bài này học viên phải:

1. Trình bày được sự giống và khác về nồng độ một số chất trong dịch não tủy so với máu.
2. Trình bày được cách nhận định kết quả xét nghiệm dịch não tủy, dịch chọc dò.
3. Thực hiện và trình bày được ý nghĩa của phản ứng Pandy và Rivalta.
4. Nguyên tắc định lượng các test bằng sử dụng que thử 10 thông số.
5. Biện luận được các trường hợp đơn giản kết quả xét nghiệm 10 thông số.
6. Kỹ thuật phân tích 10 thông số nước tiểu bằng que thử với máy phân tích nước tiểu bán tự động hoặc đọc kết quả bằng mắt.

NỘI DUNG

A. Dịch não tủy

1. Đại cương

Dịch não tủy (DNT) có trong các não thất, ống tủy và khoang dưới nhện. DNT được hình thành do đám rối mạch mạc ở các não thất (có thể do cả các tế bào ở màng ống nội tủy) lọc từ huyết tương. Giữa các khu vực trên, dịch não tủy có sự lưu thông và nó thường xuyên được đổi mới nhờ sự cân bằng giữa quá trình sinh ra và tiêu biến của dịch. DNT có tác dụng bảo vệ trung ương thần kinh khi có biến đổi về áp lực hoặc có sang chấn. DNT tiếp xúc chặt chẽ với hệ thần kinh trung ương như vậy nên bất cứ tình trạng bệnh lý nào của hệ thống này cũng gây ra những biến đổi trong dịch não tủy. Chính vì vậy, các xét nghiệm hoá sinh dịch não tủy có vai trò khá quan trọng trong chẩn đoán, theo dõi và điều trị bệnh thuộc hệ thống thần kinh trung ương. Thành phần và nồng độ các chất khác nhau giữa dịch não tủy và huyết tương là do tính thấm khác nhau của các chất

qua hàng rào máu não. Ví dụ lượng đường trong dịch não tủy chỉ bằng 2/3 lượng đường trong huyết tương, trong khi đó do có sự khuếch tán Ure nên nó có nồng độ bằng với huyết tương. Dịch não tủy không có fibrinogen nên nó không bị đông khi để lâu, nó không có bilirubin và có ít cholesteron, trái lại Cl lại có nồng độ cao hơn trong huyết tương... Bình thường dịch não tủy trong suốt như nước mưa, nó có màu trong các trường hợp bệnh lý như trắng đục trong viêm màng não mủ, vàng chanh trong lao màng não...

2. Xét nghiệm hoá sinh dịch não tủy

2.1. Định lượng protein trong dịch não tủy

Nguyên tắc, cách định lượng được tiến hành tương tự như định lượng protein niệu, tuy nhiên dự dịch não tủy trong suốt nên chỉ cần làm ống trắng trong trường hợp dịch có màu.

Đây là xét nghiệm có ý nghĩa quan trọng nhất trong dịch não tủy.

Bình thường lượng protein trong dịch não tủy là <0.45g/l. Các trường hợp bệnh lý như viêm màng não (viêm màng não mủ, viêm màng não do lao...), ép tủy, hội chứng Guillain - Barre, apxe não... có lượng protein tăng.

Người ta thấy có sự liên quan giữa lượng protein và bạch cầu trong dịch não tủy, mối liên quan này được chia ra 3 trường hợp như sau:

+ Protein và bạch cầu tăng song song: Viêm màng não do lao, giang mai, do các vi khuẩn khác, do virus, xuất huyết màng não.

+ Protein tăng ít, bạch cầu tăng nhiều (phân ly tế bào/protein): Não viêm mủ.

+ Protein tăng nhiều, bạch cầu tăng ít (phân ly protein/tế bào): Chèn ép tủy sống gây ứ đọng dịch não tủy, hội chứng Guillain - Bane, xơ cứng rải rác. Diễn hình nhất cho sự phân ly protein/tế bào là trong bệnh bại liệt.

2.2. Định lượng Glucose trong dịch não tủy

- Nguyên tắc và kỹ thuật định lượng (Xem phần định lượng đường máu).

Bình thường lượng đường trong dịch não tủy bằng 2/3 lượng đường trong máu.

- Đường trong dịch não tủy tăng có thể gặp trong các trường hợp đái đường, động kinh, uồn ván, xuất huyết não, u não... tuy nhiên nó ít có giá trị trên lâm sàng.

- Đường trong dịch não tủy giảm thường gặp trong các trường hợp viêm màng não đặc biệt là viêm màng não mủ hay do lao có khi đường chỉ còn ở dạng vết. Giải thích cho hiện tượng này là do sự xuất hiện và hoạt động của vi khuẩn và bạch cầu trong dịch não tủy. Trường hợp não viêm và bại liệt thì đường trong dịch não tủy vẫn bình thường.

2.3. Định lượng Clorua dịch não tủy

- Nguyên tắc và cách định lượng xem ở phần định lượng Clorua huyết thanh.
- Bình thường Clorua dịch não tủy cao hơn trong huyết thanh vào khoảng 120-130 mmol/l.
- Các trường hợp tăng clorua như tăng clorua máu, động kinh... cũng ít có giá trị trên lâm sàng.
- Giảm clorua gặp trong Viêm màng não mủ, viêm màng não do lao. Ngoài ra còn gặp trong các trường hợp xung huyết màng não, u não, nôn nhiều...

2.4. Phản ứng Pandy

Cách tiến hành: Trong một ống nghiệm nhỏ, đong:

- Phenol bão hoà: lâu sau đó nhỏ vào một vài giọt dịch não tủy rồi quan sát trên nền đen.

- Pandy âm tính: Nếu hỗn dịch trên vẫn trong suốt. Ngược lại, nếu có hiện tượng tủa khói trắng là phản ứng Pandy dương tính.

Phản ứng Pandy nhằm đánh giá sự mất cân bằng giữa Albumin và Globulin trong dịch não tủy. Phản ứng dương tính có sự liên quan mật thiết với nồng độ protein trong dịch não tủy.

2.5. Lactat dịch não tủy:

- Đây là xét nghiệm có giá trị độc lập trong chẩn đoán mà không phụ thuộc vào lactat huyết thanh. Người ta sử dụng xét nghiệm này để phân biệt viêm màng não do vi khuẩn với viêm màng não do virus.

Một số các nghiên cứu đã chỉ ra:

- Khi nồng độ lactat < 3mmol/l phần lớn là viêm màng não do virus.

- > 4.2 mmol/l viêm màng não do vi khuẩn và nấm

Ngoài ra < lactat tăng trong các trường hợp thiếu oxy não, chấn thương sọ não, viêm não thể nặng, bệnh non Hodgkin.

Chú ý: Khoảng 50% bệnh nhân viêm màng não sau điều trị kết quả xét nghiệm trở về bình thường muộn hơn so với triệu chứng lâm sàng.

2.6. Xét nghiệm định lượng IgG trong dịch não tủy: Trong nhiều trường hợp xét nghiệm DNT bình thường nhưng có tăng IgG. Người ta định lượng IgG theo phương pháp miễn dịch hóa phát quang hoặc điện hóa phát quang.

B. Dịch chọc dò

1. Đại cương

Bình thường, trong một số khoang của cơ thể chứa một chất lỏng có thành phần tương tự với bạch huyết nhưng số lượng ít chỉ để cho các màng đủ trơn trượt trong các hoạt động chức năng của cơ thể. Trong trường hợp bệnh lý, xuất hiện nhiều dịch trong các khoang này người ta gọi là tràn dịch. Có thể gặp tràn dịch màng tim, màng phổi, màng bụng... các xét nghiệm hoá sinh dịch chọc dò cũng góp phần cho chẩn đoán lâm sàng nhất là việc phân biệt dịch thấm và dịch tiết.

Dịch thấm: suy tim, xơ gan...

Dịch tiết: Dịch rỉ viêm màng tim, viêm phúc mạc....

2. Xét nghiệm dịch chọc dò

2.1. Định lượng protein

Nguyên tắc và cách tiến hành: xem phần định lượng protein niệu

2.2. Phản ứng Rivalta

2.2.1. Nguyên tắc

Dựa trên sự kết tủa bởi axit acetic ở nhiệt độ thường của một protein đặc biệt xuất hiện trong dịch chọc dò (trường hợp dịch tiết).

2.2.2. Tiến hành và kết quả:

Trong một cốc có chân hoặc ống đong, đong

- Nước cất: 100 ml

- Nhỏ vào đó 1-2 giọt Axit acetic đặc rồi trộn đều

Nhỏ nhẹ nhàng vài giọt dịch chọc dò vào dung dịch vừa pha và quan sát. Nếu thấy hiện tượng tủa trắng khi giọt dịch rơi xuống đáy cốc thì phản ứng Rivalta (+) đồng nghĩa với dịch đó là dịch tiết và định lượng protein dịch chọc dò cho kết quả thường trên 30g/l. Dịch này gặp trong các trường hợp do viêm.

Trường hợp không có hiện tượng trên thì phản ứng Rivalta (-) và dịch đó là dịch thẩm và lượng protein thường dưới 30g/l gặp trong các bệnh như xơ gan, hội chứng thận hư... Tuy nhiên nồng độ protein không phải là yếu tố quyết định để phản ứng Rivalta (+).

Nếu dịch chọc dò có lẫn máu, mủ thì kết quả không chính xác.

C: XÉT NGHIỆM 10 THÔNG SỐ HOÁ SINH NƯỚC TIỂU

I. ĐẠI CƯƠNG

Thận là cơ quan bài tiết nước tiểu, nó có tác dụng đào thải các chất cặn bã và chất độc là sản phẩm sinh ra trong quá trình chuyển hoá của cơ thể. Bình thường, lượng nước tiểu bài tiết trong ngày vào khoảng 1400 ml, thể tích nước tiểu có thể lên đến trên 2500 ml trong các trường hợp bệnh lý như đái nhạt, đái đường, hoặc dưới 750 ml trong các trường hợp thiếu niệu hay dưới 300 ml khi vô niệu. Hai thận có khoảng 2,4 triệu Nephron vừa là đơn vị cấu trúc vừa là đơn vị chức năng của thận. Thông qua hoạt động của mình thận có chức năng duy trì nội môi (điều hoà thành phần và nồng độ các chất trong huyết tương, điều hoà pa, điều hoà thể tích máu và dịch ngoại bào, điều hoà áp suất thẩm thấu huyết tương), ngoài ra nó còn tham gia điều hoà huyết áp nhờ tác động của hệ thống Renin - Angiotensin và tạo hồng cầu nhờ hormon là Erythropoietin. Do thận có vai trò quan trọng như vậy, nên những thay đổi về bệnh lý có thể xuất hiện sớm trong nước tiểu trước khi có triệu chứng lâm sàng. Khảo sát nước tiểu là thử nghiệm quan trọng trong việc phát hiện bệnh tật. Nó giúp cho chẩn đoán, theo dõi bệnh, đánh giá hiệu quả của phương pháp điều trị cũng như cung cấp những thông tin cần thiết về sức khoẻ. Phân tích nước tiểu cung cấp cho thầy thuốc những thông tin có giá trị, cho phép phát hiện và điều trị sớm hoặc ít ra là ngăn ngừa sự tiến triển của bệnh giúp hạn chế các thương tổn và biến chứng của bệnh. Do việc phân tích nước tiểu có giá trị như vậy, thêm vào đó việc lấy mẫu nước tiểu tương đối đơn giản (trừ trường hợp lấy mẫu nước tiểu 24h) không đòi hỏi áp dụng những thủ thuật, mặt khác người bệnh cũng dễ chấp nhận để lấy mẫu nước tiểu nên việc xét nghiệm nước tiểu có thể tiến hành thuận lợi, dễ dàng. Nhờ những tiến bộ về kỹ thuật xét nghiệm, nhất là kỹ thuật giấy nhúng nước tiểu cho

ta biết nhiều thông số một cách nhanh chóng ở mức độ bán định lượng. Do vậy, xét nghiệm này có thể trở thành xét nghiệm thường quy cho người đến khám và điều trị bệnh làm giảm thiểu các trường hợp bệnh không được chẩn đoán sớm và điều trị kịp thời.

Khi xét nghiệm nước tiểu, thầy thuốc có thể có được những gợi ý cho việc chẩn đoán, theo dõi điều trị:

- Một mẫu nước tiểu có Protein và máu là dấu hiệu chỉ điểm cho bệnh lý thận.

- Xuất hiện Glucose thường là dấu hiệu của Đái tháo đường.

- Rối loạn chức năng gan có thể được phát hiện trước tiên nhờ sắc tố mật trong nước tiểu.

- Các trường hợp huyết tán có thể được chẩn đoán nhờ sự xuất hiện của Hemoglobin và sự tăng Urobilinogen trong nước tiểu.

- Những trường hợp nhiễm khuẩn tiết niệu không có biểu hiện lâm sàng vẫn có thể phát hiện được nhờ test Nitrit và bạch cầu (+).

- Tỷ trọng nước tiểu phản ánh khả năng cô đặc hay hoà loãng nước tiểu của thận.

1. Các loại mẫu thử nước tiểu

1.1. Mẫu ngẫu nhiên

Mẫu này được lấy thuận lợi nhất. Tốt nhất trong các trường hợp nhận định tính chất vật lý, thành phần hoá học, tinh thể và trụ niệu.

1.2. Nước tiểu buổi sáng

Là mẫu nước tiểu đầu tiên trong ngày. Mẫu này đậm đặc nhất, tốt nhất dùng để nhận định bạch cầu, Nitrit, cặn lắng và HCG niệu.... Tuy nhiên ở mẫu nước tiểu này các trụ có thể đã bị thoái hoá, vi khuẩn có thể ảnh hưởng đến kết quả đường niệu.

1.3. Mẫu nước tiểu lúc đói

Là mẫu nước tiểu thứ nhì trong ngày, tốt nhất cho việc nhận định glucose và các loại trụ.

1.4. Mẫu nước tiểu san ăn

Lấy sau khi ăn 2 giờ, tốt nhất cho nhận định Glucose.

1.5. Mẫu lấy trong 1 thời gian nhất định (2,3 giờ hoặc 24 giờ)

Mẫu 2 giờ tốt nhất để nhận định Urobilinogen và cặn Addis, còn mẫu 24 giờ để nhận định các thành phần trong nước tiểu (Protein/24h, Creatinin/24h...).

Cách lấy và những lưu ý khi lấy nước tiểu (tham khảo ở bài lấy mẫu bệnh phẩm xét nghiệm).

Sau khi có mẫu nước tiểu có thể tiến hành khảo sát những tính chất vật lý cũng như thành phần nước tiểu. Các kỹ thuật xét nghiệm nước tiểu bằng tay không được trình bày trong bài này, bài này chỉ trình bày phương pháp xét nghiệm 10 thông số nước tiểu bằng dùng thanh giấy thử và đọc kết quả bằng mắt hoặc bằng máy phân tích nước tiểu bán tự động.

II. XÉT NGHIỆM NƯỚC TIỂU

2.1. Khảo sát tính chất vật lý

2.1.1. *Màu sắc nước tiểu* có thể thay đổi từ gần như không màu đến vàng, đôi khi có thể gặp những màu khác như đỏ (Máu, Hemoglobin...), nâu đen (Alcapton, Melanin), trắng đục (dưỡng chấp, mũ), xanh (Xanh Methylen, thuốc sát khuẩn đường tiết niệu...).

2.1.2. *Độ đục*: Bình thường nước tiểu trong, các dịch treo lơ lửng có thể làm nước tiểu đục nhưng để lâu sẽ lắng.

2.1.3. *Mùi*: Khi mới lấy nước tiểu có mùi nhẹ, nếu để lâu có mùi Amoniac đặc trưng, nước tiểu nhiễm khuẩn có thể có mùi hôi. Ngoài ra có thể gặp các mùi như Aceton ở bệnh nhân tiểu đường có biến chứng toan máu.

Một số tính chất vật lý khác được nhận định khi thực hiện xét nghiệm với giấy thử 10 thông số.

2.2. Xét nghiệm nước tiểu bằng que thử 10 thông số và máy phân tích nước tiểu bán định lượng hoặc đọc kết quả bằng mắt.

Thanh thử 10 thông số cho chúng ta biết các thông số sau đây của nước tiểu: Protein, Đường, các chất Cetonic, Tỷ trọng, pH, Nitri, Hồng cầu, Bạch cầu,

Urobilinogen, Bilirubin. Nếu thanh thử có 11 thông số thì có thêm thông số về Axit Ascorbic.

2.2.1. Phương tiện thực hiện xét nghiệm nước tiểu 10 thông số bao gồm:

- Thanh giấy thử 10 thông số.

- Máy phân tích bán tự động 10 thông số, có nhiều loại máy khác nhau như CLINITEK 100, CLINITEK 500, CLINTEK advantus, URITEX... Hiện nay đã có máy phân tích nước tiểu tự động. Máy này có các ưu điểm như hoàn toàn tự động, tốc độ cao, với mẫu nước tiểu có màu sắc khác thường, máy có sự tính toán so với màu chuẩn nhằm hạn chế đến mức thấp nhất sự sai lệch kết quả do màu nước tiểu gây ra, tỷ trọng nước tiểu được đo khá chính xác do thông số này được đo ở một buồng riêng chứ không dựa vào test trên thanh giấy thử..

. (Khoa Hoá sinh Bệnh viện Đa khoa Trung Ương Thái Nguyên đang sử dụng 2 máy: CLINTEK 500 VÀ CLINTEK ADVANTUS).

- Trường hợp không có máy phân tích nước tiểu, kết quả có thể được nhận định bằng mắt.

2.2.2. Kỹ thuật phân tích và thực hiện

- Nhúng toàn bộ thanh thử vào nước tiểu đã trộn đều và chưa ly tâm, nên nhúng nhanh để hoá chất không bị tan vào ống nghiệm đựng nước tiểu.

- Khi lấy ra, gạt cạnh băng giấy vào miệng ống để loại bỏ bớt lượng nước tiểu thừa trên giấy thấm.

- Trường hợp đọc kết quả bằng mắt thường thì đặt thanh thử song song với bảng màu chuẩn, ngang tầm mắt người đọc, so sánh màu sắc các vùng trên thanh giấy đã bị chuyển màu sau khi nhúng thanh giấy vào nước tiểu và bảng màu chuẩn có sẵn trên vỏ hộp đựng thanh thử để nhận định kết quả. Cách này có ưu điểm là không cần tới máy phân tích nhưng kết quả kém chính xác do phụ thuộc vào chủ quan của người đọc.

- Trường hợp đọc kết quả bằng máy thì đặt thanh giấy ngay ngắn, đúng vị trí vào bàn đựng thanh giấy và vận hành máy để máy đọc và in ra kết quả.

Lưu ý: Để đảm bảo kết quả tốt nhất cần

- Hoàn thiện động tác kỹ thuật.

- Thời gian đọc phản ứng là rất quan trọng, nếu đọc phản ứng màu trong thời gian đề nghị sẽ cho kết quả bán định lượng, còn đọc tất cả các test trong vòng 1-2 phút sẽ cho giá trị định tính. Việc đọc kết quả trên máy phân tích nước tiểu bán tự động cũng cho kết quả có giá trị bán định lượng.
- Thanh thử phải được bảo quản đúng cách (để nơi khô mát, không để trong tủ lạnh, đậy nắp sau khi lấy giấy ra khỏi lọ và luôn giữ bao chống ẩm bên trong lọ).
- Nước tiểu lấy xong nếu không được bảo quản nên xét nghiệm trong vòng 1 giờ vì để lâu ở nhiệt độ phòng dễ nhiễm khuẩn.

2.3. Nhận định kết quả.

Các loại giấy nhúng nước tiểu có thẩm hoá chất sẽ phản ứng đặc trưng với từng chất trong nước tiểu. Sự thay đổi màu sắc của giấy thẩm cho biết mức độ có mặt của chất đó trong nước tiểu.

Máy phân tích nước tiểu 10 thông số hoạt động trên nguyên lý đo phản quang. Bộ phận đo tiếp nhận tín hiệu phản quang đã bị hấp thụ một phần từ bề mặt các mảng đã chuyển màu trên thanh thử. Dưới đây là nguyên tắc và biện luận kết quả các thông số thu được sau phân tích .

2.3.1. Tỷ trọng

- Nguyên tắc: Sự có mặt của ion trong nước tiểu có liên quan chặt chẽ với phương pháp phân tích khúc xạ, với sự có mặt của các chất, một chất giải phóng ra các proton, các proton làm chuyển màu que thử từ xanh lơ sang vàng chỉ thị màu được dùng là Xanh brômthymol. Thanh thử có thể đo được tỷ trọng từ 1,0 - 1,030.
- Nhận định kết quả: Bình thường tỷ trọng nước tiểu vào khoảng 1,014 - 1,028. Đo tỷ trọng giúp đánh giá khả năng cô đặc của thận. Tỷ trọng tăng trong bệnh đái tháo đường, ngược lại nó giảm trong bệnh đái tháo nhạt. Tỷ trọng thấp kéo dài cũng thường gặp trong suy thận. (lấy mẫu nước tiểu sau siêu âm phân tích kết quả tỷ trọng không chính xác giảm do nước tiểu bị pha loãng).

2.3.2. pH nước tiểu

- Nguyên tắc: Với chất chỉ thị pH kép gồm đỏ metyl và xanh bromphenol trên vùng đo pH của thanh giấy thử, nó sẽ chuyển màu từ da cam tới xanh ve khi nhúng giấy thử vào nước tiểu. Thanh thử có thể đo được pH nước tiểu từ 5-9.

- Nhận định kết quả: Bình thường nước tiểu có tính a xít nhẹ, pH từ 5 - 6. pH này thay đổi phụ thuộc vào chế độ lao động và chế độ ăn, nó có thể biến đổi từ 4,8 đến 8,5. Nước tiểu có pH axit khi chế độ ăn nhiều thịt và ngược lại có pH kiềm khi ăn nhiều rau. pH thường thấp nhất vào sáng sớm khi chưa ăn và cao nhất sau các bữa ăn.

+ pH nước tiểu axit có thể gặp trong tiểu đường không kiểm soát, mất nước, đói lả. pH axit cũng làm tăng nguy cơ lắng đọng Uric tạo sỏi tiết niệu. Với mẫu nước tiểu có pH quá axit cần nhận định kết hợp với kết quả các test đường và ceton niệu.

+ pH kiềm hay gặp trong nhiễm khuẩn tiết niệu, cần kết hợp với các test như Nitrit, bạch cầu, hồng cầu, protein để nhận định. pH quá kiềm có thể là mẫu nước tiểu đã để quá lâu và mẫu này không còn thích hợp cho việc phân tích.

2.3.3. Các chất cetonic

Các chất cetonic trong nước tiểu bao gồm Axit acetoacetic, Axit β hydroxybutyric và aceton. Trong xét nghiệm chỉ phát hiện được hai chất là Axit acetoacetic và aceton.

- Nguyên tắc: Các chất cetonic phản ứng với Nam nitroprusiat và glyxin trong môi trường kiềm tạo phức màu tím.

- Nhận định kết quả: Bình thường không có các chất cetonic trong nước tiểu. Khi chúng xuất hiện thì có thể bệnh nhân mắc bệnh đái đường có biến chứng toan cao, bệnh nhân nhịn đói lâu ngày, nôn mửa kéo dài, trong một vài trường hợp ngộ độc. Dương tính giả có thể xảy ra với Phenolphthalein, chất chuyển hoá của L-Dopa. Nếu kết quả dương tính mà bệnh nhân nghi ngờ là đái đường hoặc đã được chẩn đoán xác định thì cần có thái độ điều trị tích cực để ngăn ngừa biến chứng do toan cao ở bệnh nhân đái đường.

2.3.4. Máu

- Nguyên tắc: Hemoglobin và hồng cầu (có thể cả Myoglobin) đóng vai trò như một peroxylase tác dụng lên peroxit hydro giải phóng oxy hoạt động.

+ Oxy này sẽ oxy hoá một chỉ thị màu làm vùng phản ứng chuyển màu từ vàng sang xanh ve.

+ Giấy nhúng nước tiểu đã bổ sung cho xét nghiệm vi thể (soi tìm hồng cầu) vì nó có khả năng phát hiện cả hồng cầu còn nguyên hoặc đã bị vỡ.

- Nhận định kết quả: Nếu phản ứng dương tính và hồng cầu còn nguyên thì có thể là các bệnh lý sau: Sỏi thận, lao thận, ung thư thận, viêm thận.

Nếu là huyết sắc tố thì gặp trong các bệnh có tan máu như sốt rét, vàng da do tan máu, ngộ độc phospho... Với các trường hợp có nguy cơ cao nên xét nghiệm nhiều lần để đảm bảo không bỏ qua những trường hợp chảy máu cách quãng, Nếu kết quả dương tính kéo dài không nên xem thường nhất là những trường hợp trên 40 tuổi.

2.3.5. Bilirubin (Sắc tố mật)

- Nguyên tắc: Bilirubin kết hợp với muối diazonium bền vững trong môi trường axit tạo dẫn xuất azo màu đỏ tím có đậm độ tỷ lệ thuận với với lượng Bilirubin có trong nước tiểu.

- Nhận định kết quả: Bình thường Bilirubin không có mặt trong nước tiểu.

Sự xuất hiện của Bilirubin trong nước tiểu cho thấy có thể có tổn thương của gan hoặc đường dẫn mật. Bilirubin có thể xuất hiện sớm trong nước tiểu trước khi có các triệu chứng lâm sàng.

Lưu ý: Nếu nước tiểu để quá lâu có thể gây âm tính giả, dùng các thuốc như chlompromazid, phenothiazid có thể cho kết quả dương tính giả.

2.3.6. Urobilinogen

- Nguyên tắc: Urobilinogen phản ứng tức thời với một muối diazonium bền vững trong môi trường axit tạo một dẫn xuất azo có màu đỏ.

- Nhận định kết quả: Bình thường Urobilinogen có trong nước tiểu. Khi lượng Urobilinogen tăng có thể là do bệnh gan hoặc tan huyết, nên xem xét cùng với

kết quả xét nghiệm Bilirubin. Nếu tắc mật hoàn toàn thì không có Urobilinogen trong nước tiểu.

Nước tiểu để quá lâu cũng có thể cho kết quả âm tính giả, dương tính giả có thể gặp trong các trường hợp màu sắc nước tiểu bị ảnh hưởng bởi para aminosalicylic axit.

2.3.7. Protein niệu

- Nguyên tắc: Trên thanh giấy thử, ở vùng phản ứng với Protein có chứa hỗn hợp đệm và chỉ thị màu mà khi pH hằng định. Nếu có Protein nó sẽ chuyển màu từ vàng sang xanh ve nhạt rồi đậm.

Trường hợp này nên dùng mẫu nước tiểu đầu tiên vào sáng buổi để xét nghiệm là tốt nhất vì lúc này nước tiểu được cô đặc một cách đầy đủ.

- Nhận định kết quả: Bình thường nước tiểu có chứa một lượng nhỏ Protein không đủ tạo ra phản ứng dương tính trên giấy thử. Khi phản ứng dương tính cần xác định. Nếu là Protein niệu thoáng qua thì không đáng ngại. Nếu Protein kéo dài có thể là do bệnh thận, nhiễm trùng tiết niệu, cao huyết áp, ngộ độc thai nghén, suy tim xung huyết. Nên xem xét thêm nitrit, máu, bạch cầu trong trường hợp này.

Như vậy, các nguyên nhân gây ra protein niệu có thể là do tăng tính lọc cầu thận, do tổn thương cầu thận, do tăng khuếch tán của protein, rối loạn tái hấp thu ở ống thận. Ngoài ra có thể gặp một loại protein đặc biệt trong nước tiểu là protein nhiệt tan (protein Bence Jones), cách phát hiện protein này phải làm theo quy trình riêng.

Lưu ý: Nếu kết quả xét nghiệm trên thanh giấy thử cho kết quả (+++) tương ứng với nồng độ 3g/l thì cần định lượng protein lại. Có nhiều phương pháp định lượng protein niệu ở đây sẽ trình bày phương pháp định lượng protein niệu dựa trên nguyên tắc dùng axit Tricloaxetic 5% để kết tủa Protein. Soi độ đục bằng quang kế.

Tiến hành: Cho vào các ống nghiệm thành phần như bảng sau:

	Ống trắng	Ống chuẩn
Nước tiểu	0,5ml	0,5ml
Nước cất	1,5ml	
Dung dịch Axit tricloacetic 5%		1,5ml

Lắc đều, để 5 phút ở nhiệt độ phòng. Trước khi đọc lại lắc đều, đọc trên quang kế, đọc đối chiếu với nước cất, công 1 cm, kính lọc có bước sóng 600-660 nm. Giá trị mật độ quang thu được là E ($E = E \text{ thử} - E \text{ trắng}$), tính kết quả theo công thức:

Protein niệu (g/l) = E. hệ số protein

Nếu phải pha loãng nước tiểu thì kết quả phải nhân với độ hoà loãng.

Tham khảo cách vẽ biểu đồ và tính hệ số protein ở bài này.

2.3.8. Đường niệu

- Nguyên tắc: Dưới tác dụng của enzym Glucose oxyase/ peroxydase.

Glucose bị oxy hoá thành nước ôxy già và axit glucuronic. Nước ôxy già sẽ Oxy hoá chỉ thị màu để chuyển vùng phản ứng từ vàng sang xanh ve (với chỉ thị màu được dùng là tetrametylbenzidine) hoặc sang nâu (với chỉ thị màu được dùng là chromogen kim iode).

Để định lượng chính xác lượng glucose niệu, người ta sử dụng hóa chất định lượng Glucose máu (xem phần nguyên tắc và phương pháp định lượng glucose máu). Chú ý pha loãng nước tiểu bằng nước cất và kết quả nhân độ pha loãng.

- Nhận định kết quả: Bình thường không có Glucose trong nước tiểu. Khi nó xuất hiện trong nước tiểu có thể do đường huyết tăng vượt quá ngưỡng thận hoặc tình trạng hấp thụ đường của thận giảm. Tình trạng như vậy có thể xảy ra trong các trường hợp bệnh lý sau: Đái đường, Stress, Viêm tụy cấp, Cushing, sau gây mê; cần kết hợp với xét nghiệm đường máu để đánh giá chính xác hơn.

2.3.9. Nitrit

- Nguyên tắc: Nitrit phản ứng với axit p-arsalinic trong hợp chất diazonium trong môi trường axit. Hợp chất diazonium lần lượt tác dụng với 1,2,3,4-tetrahydrobenzo quinolin tạo ra màu hồng.

- Nhận định kết quả: Bình thường Nitrit không có trong nước tiểu, nó được tạo thành do vi khuẩn chuyển hoá Nitrat có trong thức ăn thành Nitrit. Để tránh âm tính giả phải lấy mẫu nước tiểu đúng quy cách nghĩa là nước tiểu phải ở trong bình quang ít nhất 4 giờ, đủ thời gian cho Nitrat chuyển thành Nitrit.

Nếu kết quả âm tính chứng tỏ không có vi khuẩn Giam (-). Nếu dương tính chứng tỏ có sự nhiễm trùng tiểu, nên phối hợp với các xét nghiệm bạch cầu, protein.

Chú ý: Nếu bệnh phẩm để ngoài môi trường lâu, kết quả xét nghiệm không chính xác do nhiễm vi khuẩn từ môi trường.

2.3.10. Bạch cầu

- Nguyên tắc: Nhiễm trùng tiết niệu sinh ra các tế bào mũ, những tế bào này giải phóng Esterase. Enzym này phản ứng với thuốc thử trên thanh giấy thử tạo màu tím.

Nhận định kết quả: Có bạch cầu trong nước tiểu là một dấu hiệu chỉ điểm cho nhiễm trùng bàng quang hay thận. Nếu kết quả âm tính mà có biểu hiện lâm sàng thì cần làm bổ sung các xét nghiệm như cấy nước tiểu và xem xét phối hợp với kết quả xét nghiệm như máu, Nitrit, protein. Kết quả dương tính vẫn được ghi nhận ngay trong trường hợp xét nghiệm vi thể (soi cận) không tìm thấy tế bào bạch cầu bởi bạch cầu có thể đã bị ly giải trước đó nhưng Leukocyte Esterase vẫn còn trong nước tiểu.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ:

Hãy khoanh tròn vào câu trả lời đúng

1. Lượng đường trong dịch não tủy:

- a. Bằng 1/2 lượng đường máu.
- b. Bằng 2/3 lượng đường máu
- c. Bằng lượng đường máu.

2. Lượng Ure trong dịch não tủy:

- a. Bằng 1/2 lượng ure máu.

- b. Bằng 2/3 lượng ure máu
 - c. Bằng lượng ure máu.
3. Phản ứng Pandy (+) phản ánh:
- a. Protein trong dịch não tủy tăng, có sự mất cân đối giữa Albumin và Globulin, trong đó Globulin tăng.
 - b. Protein trong dịch não tủy tăng, có sự mất cân đối giữa các thành phần của Globulin, trong đó γ globulin tăng
 - c Protein trong dịch não tủy tăng, có sự mất cân đối giữa Albumin và Globulin, trong đó Albumin tăng.
4. Phản ứng Rivalta (+) được quyết định bởi:
- a. Nồng độ protein trong dịch chọc dò ≥ 30 g/l.
 - b. Có sự xuất hiện của một protein đặc biệt bị kết tủa bởi axit axetic ở nhiệt độ thường trong dịch chọc dò.
 - c. Cả hai lý do trên.
5. Phản ứng Pandy được thực hiện với:
- a. Nước tiểu
 - b. Dịch chọc dò
 - c. Dịch não tủy
6. Dịch thấm là dịch thường gặp trong trường hợp bệnh:
- a. Lao
 - b. Ung thư
 - c. Xơ gan, Hội chứng thận hư. . .
7. Dịch tiết thường gặp trong bệnh nào
- a. Viêm màng bụng
 - b. Viêm tụy cấp
 - c. Viêm khớp
 - d. Tất cả các trường hợp trên.
8. Kết quả xét nghiệm phân tích nước tiểu được thực hiện trên máy phân tích nước tiểu bán tự động (hay tự động) với thanh thử 10 thông số cho kết quả có giá trị:
- a. Định tính
 - b. Bán định lượng
 - c. Định lượng

9. Khi đọc tất cả các test trên thanh giấy thử trong khoảng thời gian sau khi nhúng thanh giấy thử từ 1 - 2 phút cho ta kết quả có giá trị:

- a. Định tính
- b. Bán định lượng
- c. Định lượng

10. Các chất cetonic trong nước tiểu bao gồm:

- a. Axit acetoacetic, Axit tricloacetic, Aceton
- b. Axit acetoacetic, Axit β hydroxybutyric, Aceton
- c. Axit acetic, Axit β hydroxybutyric, Aceton

11. Để tránh âm tính giả cho thử nghiệm Nitrit, cách lấy mẫu nước tiểu đúng là phải lấy nước tiểu đã lưu lại trong bàng quang ít nhất được:

- a. 2 giờ
- b. 3 giờ
- e. 4 giờ

12. Khi test Nitri (+) chứng tỏ có tình trạng bệnh lý:

- a. Nhiễm khuẩn tiết niệu
- b. Sỏi tiết niệu
- c. Suy thận

13. Test phát hiện máu trong nước tiểu trên thanh thử 10 thông số có khả năng dương tính với:

- a. Hồng cầu
- b. Hemoglobin
- c. Hồng cầu và Hemoglobin

14. Xét nghiệm Bilirubin có thể âm tính giả trong trường hợp xét nghiệm với:

- a. Mẫu nước tiểu vừa mới lấy
- b. Mẫu nước tiểu để đã quá lâu
- c. Mẫu nước tiểu không bảo quản trong tủ lạnh

15. Bình thường trong nước tiểu

- a. Không có protein
- b. Có protein với lượng nhỏ chỉ phát hiện được ở dạng vết
- c. Có protein với lượng nhỏ không đủ tạo ra phản ứng với thanh giấy thử

16. Một mẫu nước tiểu có PH quá kiềm có thể do:

- a. Mẫu nước tiểu để đã qua lâu
- b. Chế độ ăn của bệnh nhân có nhiều rau
- c. Bệnh nhân bị nhiễm khuẩn tiết niệu

17. Trường hợp Test phát hiện bạch cầu trên thanh giấy thử (+) mà soi cận không tìm thấy bạch cầu thì:

- a. Kết quả vẫn có thể được ghi nhận
- b. Kết quả sai, cần loại bỏ
- c. Kết quả không có giá trị, phải làm lại với thanh thử khác

Bài 8: BIỆN LUẬN XÉT NGHIỆM HOÁ SINH NƯỚC TIỂU

Th.BS Nguyễn Thu Giang

Mục tiêu bài học:

Sau khi học bài này, học viên trình bày lại được:

1. Cách biện luận xét nghiệm 10 thông số nước tiểu.
2. Cách biện luận một số xét nghiệm khác được sử dụng trong xét nghiệm nước tiểu.

I. ĐẠI CƯƠNG

Khảo sát nước tiểu là thử nghiệm quan trọng trong việc phát hiện bệnh tật. Nó giúp cho chẩn đoán, theo dõi bệnh, đánh giá hiệu quả của phương pháp điều trị cũng như cung cấp những thông tin cần thiết về sức khoẻ. Phân tích nước tiểu cung cấp cho thầy thuốc những thông tin có giá trị, cho phép phát hiện và điều trị sớm hoặc ít ra là ngăn ngừa sự tiến triển của bệnh giúp hạn chế các thương tổn và biến chứng của bệnh.

Do việc phân tích nước tiểu có giá trị như vậy, thêm vào đó việc lấy mẫu nước tiểu tương đối đơn giản (trừ trường hợp lấy mẫu nước tiểu 24h) không đòi hỏi áp dụng những thủ thuật, mặt khác người bệnh cũng dễ chấp nhận để lấy mẫu nước tiểu nên việc xét nghiệm nước tiểu có thể tiến hành thuận lợi, dễ dàng.

Nhờ những tiến bộ về kỹ thuật xét nghiệm, nhất là kỹ thuật giấy nhúng nước tiểu cho ta biết nhiều thông số một cách nhanh chóng ở mức độ bán định lượng. Do vậy, xét nghiệm này có thể trở thành xét nghiệm thường quy cho người đến khám và điều trị bệnh làm giảm thiểu các trường hợp bệnh không được chẩn đoán sớm và điều trị kịp thời.

Để sử dụng kết quả phân tích nước tiểu một cách giá trị nhất thì việc biện luận từng kết quả hay xem xét phối hợp giữa các kết quả xét nghiệm là rất quan trọng.

1.1. Biện luận kết quả xét nghiệm phân tích nước tiểu 10 thông số

1.1. Protein niệu

Bình thường nước tiểu có chứa một lượng nhỏ Protein không đủ tạo ra phản ứng dương tính trên giấy thử. Phản ứng âm tính không loại trừ sự có mặt của globulin, mucoprotein, protein Bence- Jones vì giấy thử nhạy cảm với albumin hơn. Khi phản ứng dương tính cần xác định nếu là Protein niệu thoáng qua thì không đáng ngại. Nếu Protein kéo dài có thể là do bệnh thận, nhiễm trùng tiết niệu, cao huyết áp, ngộ độc thai nghén, suy tim xung huyết... Nên xem xét thêm nitrit, máu, bạch cầu trong trường hợp này.

Như vậy, các nguyên nhân gây ra protein niệu có thể là do tăng tính lọc cầu thận, do tổn thương cầu thận, do tăng khuếch tán của protein, rối loạn tái hấp thu ở ống thận. Ngoài ra có thể gặp một loại protein đặc biệt trong nước tiểu là protein nhiệt tan (protein Bence Jones), cách phát hiện protein này phải làm theo quy trình riêng.

Để xác định có phải là protein niệu thường xuyên hay không cần làm nghiệm pháp protein niệu từng phần, lấy 3 mẫu nước tiểu:

Mẫu 1

Bệnh nhân dậy lúc 4 giờ đi tiểu và bỏ nước tiểu này đi. Sau đó bệnh nhân tiếp tục nằm và thu nước tiểu từ 4-7 giờ. Định lượng protein trong 1 phút.

Mẫu 2

2 giờ tiếp sau (7-9 giờ) cho bệnh nhân đứng và nhịn ăn, sau đó thu nước tiểu và định lượng protein trong 1 phút.

Mẫu 3

Cho bệnh nhân ăn và đứng 2 giờ (từ 9-11 giờ), sau đó thu nước tiểu và định lượng protein như mẫu 2.

Kết quả:

Protein có trong cả 3 mẫu và >50mg/phút là protein niệu thường xuyên.

Không có protein trong mẫu 1, protein có ở mẫu 2 và 3, không phải protein thường xuyên mà có liên quan tới tư thế đứng.

Không có protein trong mẫu 1 và 2, chỉ có ở mẫu 3 là protein niệu từng lúc do tiêu hoá.

Cần phân biệt protein thật và protein giả là chất tiết của đường sinh dục hoặc do tế bào bị hủy hoại. Có thể dùng Axít nước để phân biệt (nghiệm pháp Zotier):

Đổ từ từ axít nước vào thành ống nghiệm nước tiểu, chỗ hai chất gặp nhau xuất hiện một vòng trắng đục là protein thật, ngược lại là protein giả.

Đối với các trường hợp bệnh nhân ăn nhạt lâu ngày (bệnh nhân suy thận mạn, tăng huyết áp...) làm cơ thể thiếu muối. Trường hợp này Nếu có protein niệu cũng rất khó phát hiện, lúc này cho thêm một ít muối vào nước tiểu protein sẽ xuất hiện ngay.

Về phân loại protein niệu có nhiều cách khác nhau:

Căn cứ vào lượng protein bài xuất trong nước tiểu có thể chia thành: Protein niệu vừa (<50mg/kg thân trọng/24 giờ) và protein niệu nặng (>50mg/kg thân trọng/24 giờ).

+ Căn cứ vào nguyên nhân gây xuất hiện protein niệu có:

Protein niệu trước thận do thay đổi huyết động như ở bệnh nhân suy tim, cao huyết áp... có thể là protein do quá tải do huyết tương chứa một lượng lớn protein có TLPT nhỏ được lọc qua cầu thận với nồng độ vượt quá khả năng tái hấp thu của ống thận. Đó là protein nhiệt tan (Bence Jones- các chuỗi nhẹ lamda hay kappa trong kahler), myoglobin niệu sau chấn thương nặng...

- Protein niệu tại thận do các nguyên nhân tại thận, có thể do cầu thận hoặc do ống thận hoặc phối hợp cả hai. Tùy thuộc vào lượng protein bài xuất mà phân thành: Protein niệu cầu thận (thường > 3g/24h), ngoài ra tùy mức độ tổn thương của cầu thận mà để lọt protein có TLPT khoảng 40000 - 90000, trong đó Albumin chiếm 70% còn lại là globulin là protein niệu chọn lọc. Việc phân biệt protein niệu chọn lọc hay protein niệu không chọn lọc rất quan trọng đối với trường hợp HCTH để quyết định điều trị và xem xét sự nhạy cảm của bệnh với corticoid. Nếu cầu thận bị tổn thương nặng trong nước tiểu xuất hiện protein có TLPT lớn hơn gọi là protein niệu không chọn lọc. Protein niệu ống thận: Nếu là

Protein niệu ống thận đơn thuần thì lượng protein thường chỉ vào khoảng 1-2 g/24h, β_2 microglobulin được coi là dấu hiệu chỉ điểm tổn thương ống thận.

- Protein niệu sau thận: là protein có nguồn gốc tổ chức, thường có TLPT rất cao và lượng bài xuất thường vào khoảng 30mg/24h. Loại protein này thường gặp trong các trường hợp viêm, tổn thương niệu quản, bàng quang, niệu đạo hay tuyến tiền liệt.

Lưu ý: Nếu kết quả xét nghiệm trên thanh giấy thử cho kết quả (+++) tương ứng với nồng độ 3g/l (hoặc 5 g/l tùy loại máy phân tích) thì cần định lượng protein lại. Có nhiều phương pháp định lượng protein niệu, song phương pháp định lượng protein niệu dựa trên nguyên tắc dùng axit Tricloaxetic 5% để kết tủa Protein, soi độ đục bằng quang kế là phương pháp hay dùng.

Việc định lượng lại protein niệu là do phương pháp định lượng chỉ tuyến tính tới nồng độ protein khoảng 3g/l. Hơn nữa việc định lượng chính xác protein niệu có giá trị rất lớn trong chẩn đoán, theo dõi, đánh giá kết quả điều trị. Ví dụ một bệnh nhân được chẩn đoán lupus ban đỏ hệ thống có biến chứng thận đang được điều trị ngoại trú. Khi đến xét nghiệm thấy kết quả protein niệu là 3 g/l, nếu định lượng lại thấy tương protein là 1,2 g/l thì vẫn có thể tiếp tục điều trị ngoại trú. Nếu kết quả là 5,2 g/l thì cần có thái độ điều trị tích cực hơn và bệnh nhân có thể phải vào điều trị nội trú.

Một ví dụ khác là trường hợp HCTH, việc định lượng lại protein niệu khi kết quả phân tích trên giấy thử là 3g/l rất có ý nghĩa cho chẩn đoán bệnh vì HCTH thường có protein niệu rất cao có thể tới vài chục g/l. Bên cạnh đó nó cũng giúp rất nhiều cho việc theo dõi điều trị nhất là việc áp dụng liệu pháp corticoid. Bởi nếu một bệnh nhân được xét nghiệm 4 lần: lần 1 là trước khi vào viện, lần 2 sau 2 tuần điều trị, lần 3 sau 3 tuần điều trị và lần 4 sau 4 tuần điều trị. Cả 4 lần xét nghiệm đều cho kết quả protein niệu là 3 g/l. Nếu không định lượng lại thì không có cơ sở đánh giá hiệu quả điều trị, còn nếu định lượng lại protein niệu và giả sử kết quả của 4 lần xét nghiệm là lần 1: 15 g/l; lần 2: 10 g/l; lần 3: 7 g/l và lần 4 là 2,5 g/l. Như vậy việc đánh giá hiệu quả điều trị và quyết

định phương hướng điều trị tiếp theo cũng như tiên lượng cho bệnh nhân sẽ dễ dàng và có cơ sở tin cậy.

1.2. pH nước tiểu

Bình thường nước tiểu có tính axit nhẹ, pH từ 5 – 6, pH này thay đổi phụ thuộc vào chế độ lao động và chế độ ăn, nó có thể biến đổi từ 4,8 đến 8,5.

Nước tiểu có pH axit khi chế độ ăn nhiều thịt và ngược lại nó có pH kiềm khi ăn nhiều rau. pH thường thấp nhất vào sáng sớm khi chưa ăn và cao nhất sau các bữa ăn. pH nước tiểu là xét nghiệm hữu ích trong chẩn đoán bệnh rối loạn chuyển hoá hay các chế độ điều trị đặc hiệu như dùng sodium bicarbonate. pH nước tiểu axit có thể gặp trong tiểu đường không kiểm soát, mất nước, đói lả... pH axit cũng làm tăng nguy cơ lắng đọng Uric tạo sỏi tiết niệu. Với mẫu nước tiểu có pH quá axit cần nhận định kết hợp với kết quả các test đường và ceton niệu.

pH kiềm hay gặp trong nhiễm khuẩn tiết niệu, cần kết hợp với các test như Nitrit, bạch cầu, hồng cầu, protein để nhận định. pH quá kiềm có thể là mẫu nước tiểu đã để quá lâu và mẫu này không còn thích hợp cho việc phân tích, nên kiểm tra lại bằng mẫu khác.

1.3. Các chất ceton

Các chất ceton trong nước tiểu bao gồm Axit acetoacetic, Axit β hydroxybutyric và aceton. Trong xét nghiệm chỉ phát hiện được hai chất là Axit acetoacetic và aceton.

Bình thường không có các chất ceton trong nước tiểu. Khi chúng xuất hiện thì có thể bệnh nhân mắc bệnh đái đường có biến chứng toan cao, bệnh nhân nhịn đói lâu ngày, nôn mửa kéo dài, trong một vài trường hợp ngộ độc. Dương tính giả có thể xảy ra với Phenolphthalein, chất chuyển hoá của L-Dopa. Nếu kết quả dương tính mà bệnh nhân nghi ngờ là đái đường hoặc đã được chẩn đoán xác định thì cần có thái độ điều trị tích cực để ngăn ngừa biến chứng do toan cao ở bệnh nhân đái đường.

1.4. Máu

Test phát hiện máu trên thanh giấy thử có thể dương tính với cả hồng cầu còn nguyên hoặc hồng cầu đã vỡ (tức là có khả năng phát hiện được cả hồng cầu và Hemoglobin).

Nếu phản ứng dương tính và hồng cầu còn nguyên thì có thể là các bệnh lý sau: Sỏi thận, lao thận, ung thư thận, viêm thận. Nếu là huyết sắc tố thì gặp trong các bệnh có tan máu như sốt rét, vàng da do tan máu, ngộ độc phospho... Với các trường hợp có nguy cơ cao nên xét nghiệm nhiều lần để đảm bảo không bỏ qua những trường hợp chảy máu cách quãng, Nếu kết quả dương tính kéo dài không nên xem thường nhất là những trường hợp trên 40 tuổi.

Dương tính giả có thể do dụng cụ đựng nước tiểu bị dính thuốc sát trùng hoặc bệnh nhân rửa vùng quanh hậu môn bằng povidon.

1.5. Bilirubin (Sắc tố mật)

Bình thường Bilirubin không có mặt trong nước tiểu.

Sự xuất hiện của Bilirubin trong nước tiểu cho thấy có thể có tổn thương của gan hoặc đường dẫn mật. Bilirubin có thể xuất hiện sớm trong nước tiểu trước khi có các triệu chứng lâm sàng.

Lưu ý: Nếu nước tiểu để quá lâu có thể gây âm tính giả, dùng các thuốc như chlompromazid, phenothiazid có thể cho kết quả dương tính giả.

1.6. Urobilinogen

Bình thường Urobilinogen có trong nước tiểu. Khi lượng Urobilinogen lãng có thể là do bệnh gan hoặc tan huyết, nên xem xét cùng với kết quả xét nghiệm Bilirubin. Nếu tắc mật hoàn toàn thì không có Urobilinogen trong nước tiểu.

Nước tiểu để quá lâu cũng có thể cho kết quả âm tính giả, dương tính giả có thể gặp trong các trường hợp màu sắc nước tiểu bị ảnh hưởng bởi paraaminosalicylic axít.

1.7. Tỷ trọng

Bình thường tỷ trọng nước tiểu vào khoảng 1,014 - 1,028. Đo tỷ trọng giúp đánh giá khả năng cô đặc và pha loãng của thận, nhận biết sự mất nước

cũng như để phối hợp với các kết quả khác khi nhận định kết quả. Ví dụ: Protein niệu vết kèm theo tỷ trọng cao thì có thể hoàn toàn bình thường, trong khi protein niệu vết nhưng tỷ trọng thấp thì lại là bất thường.

Tỷ trọng tăng trong bệnh đái tháo đường, tình trạng cơ thể mất nước (cần xem xét lượng nước cung cấp cho cơ thể) ngược lại nó giảm trong bệnh đái tháo nhạt. Tỷ trọng thấp kéo dài cũng thường gặp trong suy thận. Lượng nước đưa vào cơ thể quá nhiều cũng làm giảm tỷ trọng (lấy mẫu nước tiểu sau siêu âm).

1.8. Đường niệu

Bình thường không có Glucose trong nước tiểu. Khi nó xuất hiện trong nước tiểu có thể do đường huyết tăng vượt quá ngưỡng thận hoặc tình trạng hấp thụ đường của thận giảm. Tình trạng như vậy có thể xảy ra trong các trường hợp bệnh lý sau: Đái đường, Stress, Viêm tụy cấp, Cushing, sau gây mê... cần kết hợp với xét nghiệm đường máu để đánh giá chính xác hơn.

1.9. Nitrit

Bình thường Nitrit không có trong nước tiểu, nó được tạo thành do vi khuẩn chuyển hoá Nitrat có trong thức ăn thành Nitrit. Để tránh âm tính giả phải lấy mẫu nước tiểu đúng quy cách nghĩa là nước tiểu phải ở trong bàng quang ít nhất 4 giờ, đủ thời gian cho Nitrat chuyển thành Nitrit.

Nếu kết quả âm tính chứng tỏ không có vi khuẩn Gram (-), hoặc có thể không đủ lượng nitrat hay nước tiểu chưa lưu lại đủ thời gian. Nếu dương tính chứng tỏ có sự nhiễm trùng tiểu, nên phối hợp với các xét nghiệm bạch cầu, protein...

1.10. Bạch cầu

Có bạch cầu trong nước tiểu là một dấu hiệu chỉ điểm cho nhiễm trùng bàng quang hay thận. Nếu kết quả âm tính mà có biểu hiện lâm sàng thì cần làm bổ sung các xét nghiệm như cấy nước tiểu và xem xét phối hợp với kết quả xét nghiệm như máu, Nitrit, protein. Kết quả dương tính vẫn được ghi nhận ngay trong trường hợp xét nghiệm vi thể (soi cận) không tìm thấy tế bào bạch cầu bởi bạch cầu có thể đã bị ly giải trước đó nhưng Leukocyte Esterase vẫn còn trong nước tiểu.

2. Một số xét nghiệm hoá sinh nước tiểu khác.

Ngoài xét nghiệm nước tiểu 10 thông số như đã trình bày, còn có nhiều xét nghiệm hoá sinh khác được làm trong nước tiểu. Dưới đây là một số xét nghiệm thường được áp dụng trong lâm sàng.

2.1. Các test nhanh

2.1.1. Phát hiện có thai sớm bằng thanh thử

Nguyên tắc: HCG được phát hiện bằng kháng thể kháng HCG được gắn trên thanh giấy thử. Phức hợp kháng nguyên- kháng thể làm đổi màu thanh thử.

Nhận định kết quả:

- Dương tính (có thai) Nếu ở ô đọc kết quả xuất hiện hai vạch màu, hai vạch màu này có thể có đậm độ không giống nhau.
- Âm tính (không có thai) chỉ xuất hiện một vạch màu ở vùng C.
- Không có giá trị khi không xuất hiện vạch màu nào, trường hợp này nên làm lại với thanh thử khác.

2.1.2. Phát hiện chất ma tuý bằng thanh thử.

Chất gây nghiện được phát hiện dựa trên nguyên tắc miễn dịch cạnh tranh. Chất gây nghiện có trong nước tiểu sẽ cạnh tranh với chất gây nghiện đã được cố định trên thanh thử nhằm chiếm lấy những kháng thể. Khi trong nước tiểu có chất ma tuý nó được gắn kết với kháng thể, phức hợp kháng nguyên- kháng thể cạnh tranh với kháng nguyên được cố định trên thanh thử và không tạo ra vạch màu đỏ. Ngược lại nước tiểu không có chất gây nghiện, không có sự tạo thành phức hợp kháng nguyên- kháng thể, kháng thể không bị gắn kết sẽ làm xuất hiện vạch màu đỏ trên que thử.

Nhận định kết quả:

- Dương tính: Chỉ có một vạch màu hồng xuất hiện ở băng C.
- Âm tính: Xuất hiện vạch màu hồng thứ hai ở băng T.
- Không có giá trị khi không có vạch màu nào, nên làm lại với que thử khác.

2.2. Định tính hoặc định lượng một số chất trong nước tiểu.

Một số chất như Ure, Creatinin, Axit Uric... được định lượng trong nước tiểu để chẩn đoán và theo dõi điều trị một số bệnh đặc biệt là bệnh thận, nó là

yếu tố quan trọng giúp cho việc tính độ thanh thải của các chất này nhằm đánh giá chức năng thận. Người ta còn định lượng các chất điện giải niệu, các nguyên tố như can xi, photpho... một vài enzym như Amylase, LDH... cũng được xét nghiệm trong nước tiểu. Ngoài ra, một số chất sau đây cũng được xét nghiệm trong nước tiểu để phục vụ cho chẩn đoán và điều trị.

2.2.1. Định lượng các chất Catecholamin.

Catecholamin là tên chung để chỉ các chất Adrenalin và Noradrenalin (hay Epinephrin và Norepinephrin). Hiện nay, người ta thường sử dụng phương pháp sắc ký lỏng cao áp để định lượng chất này.

Khi định lượng Catecholamin thì việc chuẩn bị lấy mẫu nước tiểu có ảnh hưởng rất nhiều đến kết quả xét nghiệm. Cần lưu ý trước khi lấy nước tiểu 48 giờ, bệnh nhân không được ăn chanh, chuối, cà phê, các thức ăn có sử dụng vani (làm tăng catecholamin).

Các thuốc điều trị thông thường, các thuốc hạ áp có ảnh hưởng tới kết quả đặc biệt là trường hợp sử dụng thuốc hạ áp là Alpha Metyl Dopa (Aldomet). Cần dừng thuốc điều trị trước khi xét nghiệm tốt nhất là 1- 2 tuần.

Nước tiểu phân tích là mẫu nước tiểu 24 giờ, cần bảo quản nước tiểu trong tối và ở pH axit.

Các trạng thái bệnh lý như suy thận, vàng da, cường giáp cũng gây nhiễu loạn cho kết quả xét nghiệm.

Định lượng Catecholamin niệu thường được sử dụng để chẩn đoán các trường hợp u tuỷ thượng thận (pheocromocytome) gây tăng huyết áp cơn, lâu ngày có thể tăng liên tục.

2.2.2. Định tính Porphyrin

Chiết proporphyrin trong nước tiểu bằng Ete ở môi trường axit axetic, sau đó chuyển porphyrin thành dạng muối clohydrat tan trong nước bằng axit clohydric.

Mức độ màu (màu đỏ) của phản ứng cho ta nhận định kết quả xét nghiệm là dương tính (màu đỏ thẫm), bình thường (màu hồng nhạt), hay âm tính khi không có màu.

Porphyrin là thành phần quan trọng của Hemoglobin và Cytochrom, là hợp chất tetrapyrrol không có sắt được tổng hợp cả ở trong và ngoài ty thể. Trong cơ thể porphyrin có 2 đồng phân là I và III, khi bệnh lý thì tăng đồng phân I. Trong quá trình tổng hợp Hem có khâu thiếu hụt enzym gây bệnh bẩm sinh thuộc nhóm porphyrin niệu. Nhóm bệnh này được chia ra ra hai loại:

- Bệnh porphyrin tạo máu bẩm sinh (bệnh Gunter) bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, rất hiếm gặp và cũng rất nặng. Bệnh thể hiện ở trẻ em: trên vùng da tiếp xúc với ánh sáng có sắc tố và nhất là có bong nước, có những cơn tan máu và lách to, thường tử vong sớm.

- Bệnh porphyrin từng cơn cấp tính: Đây là thể porphyrin gan thường gặp do di truyền trên trội, bệnh tiến triển ở người trẻ với những cơn nặng tái phát đôi khi tử vong. Bệnh có các biểu hiện tiêu hoá (đau bụng dữ dội nôn mửa, táo bón), thần kinh (giã giụa, liệt hướng thượng), tâm thần (hung trầm cảm xen kẽ).

Porphyrin dương tính chủ yếu trong bệnh kể trên. Ngoài ra các trường hợp ngộ độc như ngộ độc chì, sulfamid, barbituric hay suy gan nặng cũng có porphyrin dương tính.

2.2.3. Các chất 17 cetosteroid niệu

17 cetosteroid là các dẫn xuất chuyển hoá từ androgen được sản xuất từ thượng thận và tinh hoàn, ở nữ giới các chất này hoàn toàn có nguồn gốc thượng thận.

Áp dụng phương pháp phân tích sắc ký các chất 17 cetosteroid có thể được phân tích thành 7 thành phần. Tuy nhiên thường định lượng chất 17 cetosteroid bằng phương pháp so màu (phản ứng Zimman, dùng metadinitrobenzen phản ứng với nhóm 17 ceto trong các hợp chất).

17 cetosteroid tăng trong: Bệnh Cushing (cường do tuyến yên) và hội chứng Cushing (cường do thượng thận), dậy thì sớm, U tế bào kẽ tinh hoàn, hội chứng thượng thận-sinh dục, tăng sản hoặc u vỏ thượng thận, các trường hợp điều trị bằng ACTH hay testosteron.

17 cetosteroid giảm trong: Thiếu năng tuyến yên, nhi hoá, tuyến sinh dục kém phát triển, Addison, thiếu năng giáp, bệnh gan, bệnh thận các trường hợp bệnh mạn tính, đói và suy kiệt.

2.2.4. Một số chất chỉ dấu xương.

Loãng xương hiện đã trở thành vấn đề cần được quan tâm của xã hội, gần đây có nhiều biến chuyển về nhận thức và tiến bộ trong điều trị căn bệnh này. Do vậy nhiều chất chỉ dấu xương đã được định lượng phục vụ cho chẩn đoán và điều trị.

Các chất chỉ dấu xương trong nước tiểu được định lượng bằng phương pháp miễn dịch. Một vài chất chỉ dấu xương trong nước tiểu thường được chỉ định xét nghiệm là:

- U- NTX: Urinary N-terminal telopeptid crosslinks
- U - CTX: Urinary 13- Crosslaps

Hai chất này đánh giá sự tiêu xương và dùng để theo dõi việc điều trị loãng xương bằng Bisphosphonat.

- U-DPD tự do: Deoxypyridinoline tự do trong nước tiểu

Đây cũng là chất đánh giá sự tiêu xương và được dùng để theo dõi quá trình điều trị bằng liệu pháp hormon thay thế (HRT).

2.2.5. Micro-albumin niệu (MAU)

Về mặt bệnh học, người ta gọi Micro-albumin niệu là trường hợp trong nước tiểu có lượng nhỏ albumin vào khoảng 30-80 mg/24h. Tuy nhiên về kỹ thuật định lượng thì Micro-albumin niệu dành cho những trường hợp albumin niệu từ 30- 300mg/24h. Micro-albumin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch độ đục Micro-albumin niệu là dấu hiệu quan trọng phát hiện sớm tổn thương thận ở bệnh nhân đái đường, tăng huyết áp.

2.2.6. Định lượng một số chất trong nước tiểu: (về cơ bản sử dụng hóa chất và phương pháp định lượng các chất này trong máu: chú ý pha loãng nước tiểu với nồng độ thích hợp để đảm bảo độ chính xác của kết quả tùy theo từng loại xét nghiệm).

- Ure niệu
- Creatinin niệu
- Acid Uric niệu
- Amylase niệu

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ:

Hãy khoanh tròn vào câu trả lời đúng

1. Với kết quả xét nghiệm nước tiểu sau đây, trường hợp nào nhiều khả năng là bệnh lý:

- a. Protein niệu vết và tỷ trọng cao
- b. Protein niệu vết và tỷ trọng thấp
- c. Cả hai trường hợp trên

2. Bằng thực nghiệm người ta nhận thấy rằng nếu là protein niệu cầu thận thì lượng protein niệu thường:

- a. $\geq 1\text{g}/24\text{h}$
- b. $\geq 2\text{g}/24\text{h}$
- c. $\geq 3\text{g}/24\text{h}$

3. Bilirubin niệu là chất thường xuất hiện trong nước tiểu:

- a. Trước khi có triệu chứng lâm sàng
- b. Cùng với sự xuất hiện của triệu chứng lâm sàng
- c. Sau khi xuất hiện triệu chứng lâm sàng

4. Test phát hiện máu trong nước tiểu (+) kéo dài là dấu hiệu không nên xem thường đối với bệnh nhân có lứa tuổi:

- a. > 40 tuổi
- b. > 50 tuổi
- c. > 60 tuổi

5. Trường hợp không có Urobilinogen trong nước tiểu là trường hợp bệnh lý:

- a. Tắc mật trong gan
- b. Tắc mật hoàn toàn
- c. Tắc mật thấp

6. pH nước tiểu có tính kiềm có thể gặp trong trường hợp

- a. Nhiễm khuẩn tiết niệu
- b. Chế độ ăn nhiều rau
- c. Cả hai trường hợp trên

7. Khi xuất hiện đường niệu thì đường máu có thể đã vượt quá mức:

- a. $8,7\text{ mmol/l}$
- b. $9,7\text{ mmol/l}$
- c. $10,7\text{ mmol/l}$

8. Khi test nitrit (+), cần đánh giá phối hợp với kết quả các test:

- a. Hồng cầu, bạch cầu và protein

- b. Hồng cầu và protein
 - c. Bạch cầu và protein
9. Porphyrin niệu (+) có thể gặp trong các trường hợp bệnh lý
- a. Bệnh Porphyrin niệu
 - b. Một số trường hợp ngộ độc
 - c. Cả hai trường hợp trên.
10. Porphyrin niệu là bệnh di truyền có:
- a. 2 thể
 - b. 3 thể
 - c. 4 thể
11. DPD tự do trong nước tiểu là chỉ số theo dõi quá trình điều trị loãng xương bằng liệu pháp:
- a. Điều trị bằng Bisphotphonat
 - b. Sử dụng Hormon thay thế
 - c. Cả hai trường hợp trên
12. Catecholamin niệu là từ để chỉ một nhóm chất gồm:
- a. Epinephrin, Nor- Epinephrin, Dopamin
 - b. Nor- Epinephrin, Dopamin
 - c. Epinephrin, Nor- Epinephrin
13. Kết quả xét nghiệm Catecholamin niệu có thể đáng tin cậy trong trường hợp nước tiểu được bảo quản.
- a. Tránh ánh sáng và ở pH kiềm
 - b. Tránh ánh sáng và ở pH trung tính
 - c. Tránh ánh sáng và ở pH axit
14. Kết quả xét nghiệm protein niệu(-) với phương pháp dùng giấy thử cho phép ta khẳng định trong nước tiểu không có:
- a. Albumin
 - b. Globulin
 - c. Protein Bence- Jonnes

Bài 9 : VẼ BIỂU ĐỒ PROTEIN

Ths. Nguyễn Thu Giang

* Mục tiêu bài học

Nắm được nguyên tắc và các bước tiên hành vẽ biểu đồ Protein để từ đó biết cách tính hệ số protein.

1. Nguyên tắc:

- Sử dụng dung dịch chuẩn Protein có nồng độ đã được xác định. (ví dụ: dung dịch chuẩn Protein 60 g/l)

- Sử dụng NaCl 0,9% để làm dung dịch hòa loãng.

- Pha loãng dung dịch chuẩn Protein 60g/l thành các dung dịch Protein có nồng độ là 0,5g/l; 1,0g/l; 1,5g/l; 2,0g/l....

- Tiến hành định lượng các dung dịch chuẩn Protein trên (theo kỹ thuật định lượng Protein trong nước tiểu) để tìm được mật độ quang học tương ứng cho mỗi một nồng độ. Nếu đường biểu diễn mối quan hệ giữa nồng độ (C) với nồng độ quang học (E) là một đường thẳng đi qua gốc tọa độ ta sẽ xác định được hệ số Protein.

2. Phương pháp tiến hành như sau:

2.1. Pha loãng dung dịch chuẩn Protein 60g/l thành dung dịch Protein 50g/l, áp dụng quy tắc đường chéo để pha loãng.

- Hiệu số của dung dịch chuẩn và dung dịch có nồng độ cần pha là $60 - 50 = 10$.

- Hiệu số của dung dịch cần pha và dung dịch có nồng độ bằng 0 (NaCl 0,9%) :
 $50 - 0 = 50$

- Dung dịch chuẩn 60 g/l: 5 thể tích.

- NaCl 0,9%: 1 thể tích.

2.2. Pha loãng dung dịch chuẩn Protein có nồng độ 50g/l thành dung dịch chuẩn có nồng độ 5g/l. Tiến hành pha loãng theo tỷ lệ 1/10.

- Dung dịch chuẩn 50 g/l: 1 thể tích.

- NaCl 0,9%: 9 thể tích.

2.3. Pha loãng dung dịch chuẩn Protein có nồng độ 5g/l thành dung dịch chuẩn có nồng độ 2,5g/l. Tiến hành pha loãng theo tỷ lệ 1/2.

- Dung dịch chuẩn 5 g/l : 1 thể tích.

- NaCl 0,9% : 1 thể tích.

2.4. Pha loãng dung dịch chuẩn Protein 2,5g/l thành dung dịch chuẩn có nồng độ 0,5g/l; 1,0g/l; 1,5g/l; 2,0g/l.

Nồng độ cần pha	0,5g/l	1,0g/l	1,5g/l	2,0g/l
Dung dịch chuẩn Protein 2,5g/l	0,5g/l	1,0g/l	1,5g/l	2,0g/l
NaCl 0,9%	2,0g/l	1,5g/l	1,0g/l	0,5g/l

2.5. Từ các dung dịch chuẩn Protein có nồng độ đã được xác định trên đây, tiến hành định lượng để xác định mật độ quang học E cho mỗi một nồng độ bằng phương pháp soi độ đục.

Ở mỗi một nồng độ cần tiến hành làm 3 mẫu. Mật độ quang học E được tính bằng cách lấy trung bình cộng của 3 lần đo.

	Dung dịch chuẩn Protein 0,5g/l	Dung dịch chuẩn Protein 1.0g/l	Dung dịch chuẩn Protein 1.5g/l	Dung dịch chuẩn Protein 2.0g/l
	0.5ml	0.5ml	0.5ml	0.5ml
Acid Trichloacetic 5%	2.0ml	2.0ml	2.0ml	2.0ml

Lắc đều, để yên 5 phút, đọc ở quang kế bước sóng $\lambda = 600 \text{ nm}$.

Từ nồng độ C_1 đo được mật độ quang học tương ứng E_1

Từ nồng độ C_2 đo được mật độ quang học tương ứng E_2

Từ nồng độ C_3 đo được mật độ quang học tương ứng E_3

Từ nồng độ C_4 đo được mật độ quang học tương ứng E_4

Mối liên quan giữa nồng độ C và mật độ quang học E được biểu thị trên đồ thị: $y = a x + b$

$$K_1 = \frac{C_1}{E_1}; K_2 = \frac{C_2}{E_2}; K_3 = \frac{C_3}{E_3}; K_4 = \frac{C_4}{E_4};$$

+ Nếu mối liên quan giữa nồng độ C và mật độ quang học E là tuyến tính nghĩa là E tỉ lệ thuận với C thì $K = K_1 = K_2 = K_3 = K_4$. Biểu đồ là đường thẳng đi qua gốc tọa độ.

Trên thực tế $K_1 = K_2 = K_3 = K_4$, do đó hệ số $K = \frac{K_1 + K_2 + K_3 + K_4}{4}$

+ Nếu mối liên quan giữa nồng độ C và mật độ quang học E không tuyến tính nghĩa là E không tỉ lệ với C thì $K_1 \neq K_2 \neq K_3 \neq K_4$. Trong trường hợp này ta không thể tính được hệ số K.

Câu hỏi lượng giá

1. Khi vẽ biểu đồ chỉ cần tiến hành vẽ hai điểm.

A. Đúng

B. Sai

2. Biểu đồ tuyến tính thì mới tính được hệ số.

A. Đúng

B. Sai

3. Sử dụng dung dịch nào sau đây để pha loãng protein chuẩn:

A. NaCl

B. Nước khử ion

C. Nước cất.

4. Cần pha loãng dung dịch chuẩn protein thành dung dịch có nồng độ:

A. 0,5g/l; 1,0g/l; 1,5g/l; 2,0g/l.

B. 0,5g/l; 1,5g/l; 2,0g/l.

Bài 10: ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN TRONG NƯỚC TIÊU, DỊCH CHỌC DÒ, DỊCH NÃO TỦY

Mục tiêu bài học: sau khi học xong bài này học viên

1. Thực hiện được định lượng protein niệu, protein não tủy trên máy bán tự động, máy tự động.

1. Đại cương: Bình thường không có protein trong nước tiểu hoặc có với nồng độ rất thấp; trong não tủy có một lượng protein rất thấp $< 0.45\text{g/l}$.

2. Nguyên tắc:

2.1. Máy bán tự động:

- Dựa trên nguyên tắc kết tủa protein bởi acid trichloroacetic

2.2. Máy tự động

- Dựa trên nguyên tắc

Pyrogallol (màu đỏ) + Molybđate \longrightarrow phức hợp (màu đỏ) Pyromolybdate.

phức hợp (màu đỏ) + protein \longrightarrow phức hợp A blue- purple (màu xanh). Đo ở bước sóng 600. đậm độ màu tỷ lệ thuận với nồng độ protein có trong mẫu bệnh phẩm.

4. Hóa chất:

Máy bán tự động:

- Hóa chất trichloroacetic 5%
- Nước cất pha loãng bệnh phẩm
- Protein standard (xây dựng biểu đồ chuẩn xác định hệ số K).

4.2. Máy tự động

- Hóa chất R1 đã sẵn sàng cho việc sử dụng. Ổn định đến hết hạn sử dụng; bảo quản nhiệt độ $2 - 8^{\circ}\text{C}$; mở nắp hóa chất đặt vào thiết bị ổn định trong vòng 90 ngày.
- Hóa chất chuẩn (calibration có nồng độ $0,5\text{g/l}$)
- Hóa chất kiểm tra chất lượng

4. Bệnh phẩm:

- Nước tiểu phân tích ngay; kết quả ổn định 48h ở nhiệt độ $2-8^{\circ}\text{C}$. Chuẩn bị mẫu nước tiểu: Định tính protein bằng acid trichloroacetic 30%. Tùy theo lượng protein mà pha loãng bệnh phẩm cho phù hợp. Pha loãng bằng nước cất. Kết quả nhân độ pha loãng.
- Dịch não tủy: phân tích ngay.

5. Tiến hành:

5.1. Máy bán tự động

Tiến hành: Cho vào các ống nghiệm thành phần như bảng sau:

	Ống trắng	Ống chuẩn
Nước tiểu	0,5ml	0,5ml
Nước cất	1,5ml	
Dung dịch Axit tricloacetic 5%		1,5ml

Lắc đều, để 5 phút ở nhiệt độ phòng. Trước khi đọc lại lắc đều, đọc trên quang kế, đọc đối chiếu với nước cất, cồng 1 cm, kính lọc có bước sóng 600-660 nm. Giá trị mật độ quang thu được là E (E = E thử - E trắng), tính kết quả theo công thức:

Protein niệu (g/l) = E. hệ số protein

Nếu phải pha loãng nước tiểu thì kết quả phải nhân với độ hoà loãng.

Tham khảo cách vẽ biểu đồ và tính hệ số protein ở bài này.

5.2. Máy tự động

- Parameter: W: 600 nm; slope : +; Method: END
- Point: 0-10; Dynamic range: 0.01 – 2 g/ l
- Chuẩn: (AB); $y=AX+ B$; C(vị trí: 8.) = 0.5 g/l
- Kiểm tra chất lượng: sử dụng control (1) và (2) tra bảng trong giới hạn $\pm 1SD$ là tốt nhất.
- Dán code mã hóa theo phiếu
- Phân tích mẫu bệnh nhân: Hút 500 μ nước tiểu, dịch não tủy vào sample cup (đã gián code mã hóa theo phiếu).
- Duyệt mẫu trên medisof
- Xếp mẫu máu vào rack đưa vào máy phân tích.

6. Nhận định kết quả:

6.1. Giá trị bình thường:

- Nước tiểu: âm tính.
- Dịch não tủy: <0.45 g/l
- Ngưỡng phát hiện thấp nhất của thiết bị 0.01 g/l

6.2. Bệnh lý:

7. Vai trò của xét nghiệm protein nước tiểu và dịch não tủy:

7.1. Thăm dò các bệnh lý hệ tiết niệu

7.2. Theo dõi điều trị ở bệnh nhân thận hư

7.3. Thăm dò các bệnh lý tủy sống, não...

8. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:

- Nước tiểu lấy sai qui cách: để mẫu quá lâu, nước tiểu bị pha loãng.
- Dịch não tủy để lâu ở môi trường.

Câu hỏi lượng giá:

1. Trình bày các bước tiến hành định lượng protein niệu, protein não tủy trên máy bán tự động, máy tự động.

(Có thể sử dụng phương pháp này để định lượng urê trong dịch não tủy và trong nước tiểu)

Mục tiêu bài học:

1. Thực hiện được xét nghiệm Ure trong huyết thanh
2. Trình bày được ý nghĩa lâm sàng của xét nghiệm Ure

NỘI DUNG

Ure là sản phẩm của con đường thoái hóa chính của các protein trong cơ thể và là sản phẩm quan trọng nhất của chuyển hóa Nito. Ure nitrogen (BUN) là phần nitrogen của ure. Quá trình tổng hợp ure xảy ra ở gan: Protein → acid amin → NH₃ → Carbamin phosphat → Citrulin → Arginin → Ure.

Ure có nguồn gốc từ thoái hóa protein. Protein có thể có nguồn gốc từ:

(1) Thức ăn: Các protein ngoại sinh được các protease của đường tiêu hóa chuyển hóa tạo nên các a.amin. Các acid amin này được tái hấp thu và chuyển hóa thành NH₃, NH₃ được tổng hợp thành ure ở gan.

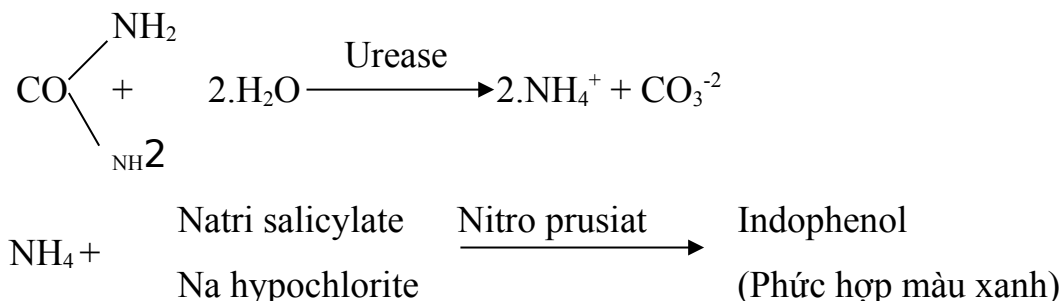
(2) Nội sinh: Quá trình dị hóa protein mô giải phóng các acid amin, chuyển hóa thành NH₃, và tổng hợp ure tại gan.

Ure được đào thải qua thận là chủ yếu, 1 phần nhỏ qua ruột nhờ enzym urerace của ruột.

Do vậy, xét nghiệm ure máu giúp chẩn đoán tình trạng suy thận nhất là khi kết hợp với tỷ lệ ure niệu/ure máu; Đánh giá mức cung cấp protein của một chế độ ăn

I. Nguyên tắc:

Dưới tác dụng của men urease và H₂O, Ure được thủy phân sẽ giải phóng ra amoniac và CO₂ - tonamoni sẽ phản ứng với Hypochlorite và Salicylate tạo thành phức hợp màu xanh, đậm độ màu sắc tỷ lệ với nồng độ ure có trong mẫu thử.



II. Thuốc thử

1. Thuốc thử số 1(R1) gồm:

- Dung dịch đệm phosphate: 120 mmol/l
- Natri Salicylate: 60 mmol/l
- Natri nitroprussite: 5 mmol/l
- EDTA: 1 mmol/l

2. Thuốc thử số 2 (R2) gồm:

- Dung dịch đệm Phosphate: 120 mmol/l
- Natrihydroxyt: 60 mmol/l
- Natrihypochlorite: 10 mmol/l

3. Dung dịch enzym đậm đặc

- urease > 500u/l.

4. Dung dịch chuẩn ure: Có nồng độ 13,3mmol/l tương đương với BUN (Blood urea nitrogen) 6,2 mmol/l.

+ Thuốc thử R1: được pha bằng cách trộn lẫn lọ thuốc thử số 3 với thuốc thử số 1. Bền vững 10 ngày ở to từ 15⁰C-25⁰C.

+ Thuốc thử R2: đã sẵn sàng để sử dụng.

III. Tiến hành

Dụng cụ thuỷ tinh được sử dụng để định lượng ure bằng phương pháp này cần phải được rửa sạch sẽ, sấy khô để tránh nhiễm amoniac dễ gây sai số thừa. Sử dụng nước cất đã loại bỏ amoniac.

Mẫu thử là huyết thanh, huyết tương (dùng mọi loại chất chống đông trừ amonium heparinate); không cần nhịn ăn trước khi lấy máu làm xét nghiệm. Chú ý: không ăn nhiều protein trước khi lấy máu làm xét nghiệm.

Đối với nước tiểu phải hoà loãng tỷ lệ 1/10 bằng nước cất.

	Ống trắng	Ống chuẩn	Ống thử
Huyết thanh (huyết tương)	-	-	10µl
Dung dịch chuẩn ure 13,3mmol/l	-	10µl	-
Thuốc thử 1a	1ml	1ml	1ml
Trộn đều - ủ 37°C trong 3 phút. Sau đó lấy ra cho thêm			
Thuốc thử số 2	1ml	1ml	1ml

Trộn đều, ủ ở 37°C trong 5 phút. Lấy ra đọc ở quang kế có bước sóng 580nm.

IV. Tính kết quả

1. Kết quả urê được tính theo

$$\frac{\Delta A (\text{thử} - \text{trắng})}{\Delta A (\text{chuẩn} - \text{trắng})} \times \text{nồng độ ure chuẩn } 13,3 \text{ mmol/l}$$

2. Độ tuyến tính:

Nồng độ ure tuyến tính đến 66,6mmol/l; nếu kết quả lớn hơn 66,6mmol/l thì phải hoà loãng bệnh phẩm theo tỷ lệ 1 : 1 bằng nước cất . Sau đó kết quả phải nhân với hai.

3. Kết quả BUN được tính theo:

$$\frac{\Delta A (\text{thử} - \text{trắng})}{\Delta A (\text{chuẩn} - \text{trắng})} \times \text{nồng độ BUN } 6,2 \text{ mmol/l}$$

V. Biện luận kết quả:

- Giá trị bình thường

Ure (huyết thanh, huyết tương): 2,5 – 8.3 mmol/l

Ure (nước tiểu) : 333 - 583 mmol/l

- Biện luận kết quả:

Nồng độ ure phụ thuộc vào chế độ ăn uống, vào sự đào thải ure ở thận và sự tổng hợp ure ở gan.

Ure tăng trong các bệnh về thận: Suy thận, viêm cầu thận, viêm thận, hội chứng gan thận, sỏi thận. Ure cũng tăng trong các bệnh có nguyên nhân ngoài thận: Bệnh nhiễm trùng, mất máu cấp, sock, sau các chấn thương, đái ít, sốt cao vì cơ thể mất nhiều nước.

Ure huyết giảm trong bệnh đái tháo đường, teo gan, trong chế độ ăn ít thịt, ở bệnh nhân thai nghén, song ít quan trọng đối với lâm sàng.

Câu hỏi lượng giá

1. Định lượng Ure trong huyết thanh bằng kỹ thuật nào?
 - a. So màu
 - b. Đo độ đục
 - c. Enzym so màu
2. Mẫu xét nghiệm Ure là:
 - a. Huyết thanh
 - b. Huyết tương
 - c. Máu toàn phần
3. Nếu mẫu xét nghiệm Ure là huyết tương thì máu được chống đông bằng gì?
 - a. EDTA
 - b. Natri citrat
 - c. Amoni citrat
 - d. Amoni heparinat
4. Ure trong máu tăng các trường hợp nào?
 - a. Các bệnh về thận
 - b. Suy giảm chức năng gan
5. Ure máu tăng trong trường hợp nào sau đây:
 - a. Mất máu cấp
 - b. Đái ít
 - c. Sock nặng
 - d. Nhiễm khuẩn huyết
 - e. Tất cả các trường hợp trên
6. Để đánh giá chức năng thận người ta xét nghiệm
 - a. Ure huyết
 - b. Ure niệu
 - c. Creatinin huyết
 - d. Điện giải đồ

Bài 12: ĐỊNH LƯỢNG CREATININ HUYẾT THANH (Phương pháp Jaffé)

TS. Lê Thị Hương Lan

MỤC TIÊU: Học xong bài này, học viên:

1. Trình bày được nguyên tắc của phương pháp định lượng Creatinin trong huyết thanh bằng phương pháp động học không khử tạp dựa trên phản ứng Jaffe
2. Thực hiện được xét nghiệm định lượng Creatinin trong huyết thanh bằng máy bán tự động, tự động
3. Biết trị số của Creatinin trong huyết thanh của người bình thường và biện luận giá trị bệnh lý.

I. ĐẠI CƯƠNG

Creatinin là sản phẩm thoái hoá của creatin và phosphocreatin. Creatinin không có giá trị đối với cơ thể và được đào thải ra ngoài bởi thận. Creatinin cũng như Creatin là những sản phẩm có nitơ của cơ thể. Sự đào thải Creatinin qua nước tiểu phụ thuộc vào chức năng lọc cầu thận và hoạt động sinh lý của thận và vì vậy việc định lượng creatinin trong máu và nước tiểu có giá trị trong việc thăm dò chức năng lọc cầu thận qua độ thanh lọc của creatinin. Do vậy, mục đích xét nghiệm creatinin máu để chẩn đoán và đánh giá mức độ suy thận.

II. ĐỊNH LƯỢNG CREATININ (phương pháp Jaffé).

1. **Phương pháp:** phương pháp động học không loại Protein.
2. **Nguyên lý:** Creatinin trong dung dịch Picrat kiềm tạo ra một phức hợp màu đỏ da cam. Mật độ quang học tỷ lệ với nồng độ creatinin trong bệnh phẩm.

Creatinin + axit Picric → phức hợp Creatin Picrat.

3. **Thuốc thử (hóa chất):** thành phần và nồng độ trong Test.

- R₁ : dung dịch NaOH : 0,16 mol/l.
- R₂ : dung dịch axit Picric 4 mmol/l.
- Dung dịch chuẩn: 2mg/dl (177 μmol/l).

Chú ý: Hóa chất ổn định đến hết hạn sử dụng, bảo quản tránh ánh sáng, trong điều kiện nhiệt độ 2-8 °C. Khi mở hóa chất đặt vào máy, ổn định trong vòng 14 ngày.

4. Bệnh phẩm

- Huyết thanh, huyết tương chống đông bằng Heparin (không vỡ hồng cầu).
Bệnh phẩm ổn định 7 ngày khi bảo quản nhiệt độ 2 – 8 °C (không nhất thiết phải yêu cầu bệnh nhân nhịn ăn trước khi lấy máu).

- Nước tiểu hoà loãng theo tỷ lệ 1/50. Bảo quản bệnh phẩm 2 – 8 °C

Bệnh phẩm bền vững ở 2°C → 8°C trong 24 giờ.

5. Tiến hành:

- Bước sóng: 492 nm Hg.
- Độ dày cồng đo: 1cm.
- Nhiệt độ: 20°C (25°C → 37°C).
- Số O của máy so với nước cất.

	Ống trắng	Ống chuẩn	Ống thử
Nước cất	50µl	0	0
Bệnh phẩm	0	0	50µl
Dung dịch chuẩn	0	50µl	0
Thuốc thử R ₁	100µl	100µl	100µl
Lắc đều – để nhiệt độ thường trong 5 phút. Thêm			
Thuốc thử R ₂	250µl	250µl	250µl

Lắc đều, để 1 phút.

Đọc mật độ quang được E¹ của → E₁ trắng.

→ E₁ chuẩn.

→ E₁ thử

Sau một phút nữa đọc mật độ quang E₂ được E₂ của → E₂ trắng

→ E₂ chuẩn

→ E₂ thử

ΔE bệnh phẩm = (E₂ - E₁) bệnh phẩm - (E₂ - E₁) trắng.

ΔE chuẩn = (E₂ - E₁) chuẩn - (E₂ - E₁) trắng.

6. Tính kết quả

$$\text{Creatinin} = 50 \times \frac{\Delta E \text{ bệnh phẩm}}{\Delta E \text{ chuẩn}} \times \text{nồng độ chuẩn (mg/dl, } \mu\text{mol/l)}$$

Với nước tiêu:

$$\text{Creatinin} = 50 \times \frac{\Delta E \text{ bệnh phẩm}}{\Delta E} \times \text{nồng độ chuẩn}$$

Giới hạn để pha loãng:

Nếu nồng độ creatinin huyết thanh $\geq 2200 \mu\text{mol/l}$ thì pha loãng 1 phần bệnh phẩm với 1 phần nước muối NaCl 0.9 % và khi tính kết quả thì phải nhân với 2. Creatinin niệu vượt quá giới hạn tuyến tính thì pha loãng bệnh phẩm với nước cất.

III. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Trị số bình thường

- Nam: 62 - 115 $\mu\text{mol/l}$
- Nữ: 53 - 96 $\mu\text{mol/l}$

2. Tăng: trong suy thận, viêm thận cấp, viêm thận mạn.

Trong thực tế lâm sàng, người ta nhận xét thấy nồng độ creatinin và ure máu có khi không tăng song song với nhau trong các thể suy thận. Có thể do nhiều nguyên nhân.

* *Những điều cần chú ý:*

a. Bệnh phẩm có thể ảnh hưởng đến kết quả creatinin

a. axit ascorbic > 30mg/dl

Hemoglobin > 500mg/dl

Mỡ trong máu > 200mg/dl Triglyxerit

Bilirubin cao ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm

ảnh hưởng tới kết quả xét nghiệm.

Nồng độ creatinin ổn định 7 ngày trong điều kiện nhiệt độ 2-8⁰C

b. Thuốc thử R₁ có chứa NaOH nên khi làm xét nghiệm cần chú ý, tránh để bắn vào mắt.

c. Thuốc thử R₂ có chứa axit picric, đó là chất độc, nên tránh tiếp xúc với da, mắt, niêm mạc.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất

1. Trong bài học này, Creatinin trong huyết thanh được định lượng theo phương pháp:

- a. Động học không khử tạp
- b. đo màu
- c. đo độ đục

2. Bệnh phẩm để làm xét nghiệm Creatinin có thể dùng (chọn câu trả lời đúng và đầy đủ nhất):

- a. Huyết thanh
- b. Huyết thanh, huyết tương chống đông bằng Heparin, nước tiểu
- c. Huyết thanh, huyết thanh vỡ hồng cầu.

3. Các yếu tố có ảnh hưởng đến kết quả Creatinin (chọn câu trả lời đúng và đủ):

- a. Bilirubin tăng cao
- b. Triglycerid tăng cao
- c. Hemoglobin, Triglycerid, Bilirubin tăng cao.

4. Xét nghiệm nào có giá trị chẩn đoán chức năng thận

- a. Ure máu
- b. Creatinin máu
- c. Creatin máu
- d. Creatin kinase máu

5. Lựa chọn các xét nghiệm chỉ định ở bệnh nhân có bệnh lý thận

- a. Ure máu
- b. Creatinin máu
- c. Kali máu
- d. acid uric máu
- e. Protein niệu và tế bào trụ cặn

f. Tất cả các xét nghiệm trên

Bài 13: ĐỊNH LƯỢNG GLUCOSE HUYẾT VÀ PHƯƠNG PHÁP SO MÀU, ENZYM SO MÀU

TS. Lê Thị Hương Lan

Mục tiêu học tập: Sau khi học xong bài này, học viên:

- 1- Trình bày được nguyên tắc của phương pháp so màu và enzym so màu.
- 2- Thực hiện được một số xét nghiệm định lượng glucose, protein huyết thanh trên máy bán tự động và tự động.

1. Định nghĩa

Là phương pháp đo mật độ quang của sản phẩm tạo thành dựa trên định luật Lambe-Beer.

2. Nguyên tắc

Phương pháp so màu:

$S + R \rightarrow P$: Có màu

Phản ứng xảy ra không cần sự xúc tác của enzym

Phương pháp enzym so màu:

E

$S + R \xrightarrow{E} P$ (có màu)

Phản ứng xảy ra dưới tác dụng xúc tác của enzym

Màu của sản phẩm tạo thành tỷ lệ với nồng độ của chất tham gia phản ứng (chất cần định lượng trong mẫu bệnh phẩm).

3.2. Phương pháp định lượng glucose trong huyết thanh bằng phương pháp enzym so màu:

Bình thường glucose máu được sản xuất từ 2 nguồn gốc hoàn toàn riêng biệt:

* Nguồn gốc ngoại sinh: Chuyển hóa các carbohydrat do thức ăn cung cấp. Sau khi ăn, ở người bình thường nồng độ glucose máu đạt đỉnh sau ăn 1h; nồng độ glucose máu sau ăn 2 h < 6,6-7,7 mmol/L, sau đó trở về bình thường

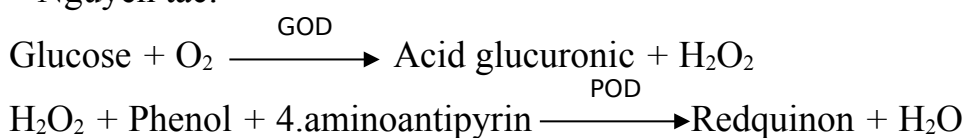
* Nguồn gốc nội sinh: (Tổng hợp glucose từ glycogen).

Điều hòa nồng độ glucose máu chịu tác động của 2 hệ thống hormon đối lập nhau:

- (1) Insulin có tác dụng làm giảm glucose máu
- (2) Glucagon, adrenalin, cortisol và GH có tác dụng làm tăng glucose máu.

Vì vậy, xét nghiệm glucose máu cho phép phát hiện các rối loạn chuyển hóa glucose (Bệnh ĐTĐ). Để phát hiện bệnh nhân ĐTĐ người ta thường định lượng glucose máu ngẫu nhiên, khi đói và định lượng glucose sau khi làm nghiệm pháp tăng glucose huyết (nếu cần).

* Nguyên tắc:



* Bệnh phẩm:

- Huyết thanh/ huyết tương chống đông EDTA hoặc lithium heparin, natri florua, kali oxalat. Bệnh nhân phải nhịn đói ít nhất 8h trước khi lấy máu. Nếu bệnh nhân đang dùng thuốc hạ glucose huyết nên dừng thuốc vài ba ngày trước khi lấy máu làm xét nghiệm.

* Tiến hành:

	Ống trắng	Ống chuẩn	Ống bệnh phẩm
Thuốc thử	2ml	2ml	2ml
Dung dịch chuẩn		20μl	
Bệnh phẩm			20μl
Lắc đều, ủ 5 phút ở 37°C			
Đọc ở bước sóng 546nm			

~ Tính toán:

$$K = \frac{C \text{ chuẩn}}{E \text{ (chuẩn- trắng)}}$$

$$C \text{ bệnh phẩm} = K * E \text{ (bệnh phẩm - trắng)}$$

(Hiện nay việc sử dụng que thử có tẩm enzym glucose oxydase và máy đo glucose huyết cá nhân cho phép đo ngay tức thì nồng độ glucose huyết mao mạch của bệnh nhân).

* Biện luận kết quả:

✓ Trị số bình thường: 3,9-6,4mmol/l

✓ Tăng:

- ĐTĐ

- Các bệnh về tụy: Viêm tụy cấp và viêm tụy mạn: đường huyết tăng nhẹ.

- Các bệnh tuyến yên và thượng thận: đường huyết tăng nhẹ.

- Nhiễm độc tuyến giáp

✓ Giảm:

- Hạ đường huyết do thuốc

- Hạ glucose huyết sau hấp thu: có thể do thuốc hoặc do một số nguyên nhân khác: insulinoma, suy tuyến thượng thận, suy tuyến yên, bệnh tự miễn kháng thể kháng insulin.

- Hạ đường huyết do bệnh gan, thận, tim, nhiễm trùng

- Hạ đường huyết do dinh dưỡng.

- Hạ đường huyết do thiếu hormon tăng trưởng hay cortisol (hay gặp ở trẻ em).

- Các bệnh về gan

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

Anh chị hãy chọn câu trả lời đúng nhất

1. Xét nghiệm sinh hóa chỉ sử dụng phương pháp so màu

a. Đúng

b. sai

2. Phương pháp so màu và phương pháp so màu enzym khác nhau

a. Phản ứng dùng cơ chất

b. Phản ứng dưới xúc tác của enzym

3. Chọn công thức đúng cho phản ứng so màu:

a. $S + R \rightarrow P$ (có màu)

E

b. $S + R \xrightarrow{P}$ (có màu)

4. Chọn công thức đúng cho phản ứng so màu enzym
- a. $S + R \xrightarrow{E} P$ (có màu)
 - b. $S + R \rightarrow P$ (có màu)
5. Phương pháp xét nghiệm định lượng protein là:
- a. Phương pháp so màu
 - b. phương pháp enzym so màu
6. Phương pháp xét nghiệm glucose máu là phương pháp enzym so màu
- a. Đúng
 - b. Sai
7. Chẩn đoán ĐTĐ người ta định lượng
- a. Glucose máu ngẫu nhiên
 - b. Glucose máu lúc đói
 - c. Glucose máu sau khi làm nghiệm pháp tăng glucose huyết
 - d. Tất cả các trường hợp trên
8. Những trường hợp nào sau đây gây sai số ở xét nghiệm định lượng glucose huyết
- a. Mẫu máu để quá lâu, không có chất chống đông Na F
 - b. Lấy máu khi đang truyền glucose
 - c. Sau khi ăn
 - d. Tất cả các trường hợp trên.

Bài 14. ĐỊNH LƯỢNG PROTEIN HUYẾT THANH

TS.BS. Lê Thị Hương Lan

Mục Tiêu bài học: Sau khi học xong bài này

Thực hiện được xét nghiệm định lượng protein huyết thanh và protein dịch chọc dò trên máy tự động và bán tự động.

1. Đại cương:

Protein toàn phần trong máu bao gồm albumin và globulin. Albumin được tổng hợp ở gan có vai trò (1) tham gia duy trì áp lực keo trong huyết tương; (2) đảm bảo sự vận chuyển nhiều loại chất (bilirubin, acid béo, các hormon và thuốc.

Globulin có 3 loại: alpha, beta và gamma globulin. Các globulin có vai trò

(1) Tham gia duy trì cân bằng kiềm toan.

(2) Tham gia vào đáp ứng viêm của cơ thể.

(3) Đóng vai trò chủ đạo trong cơ chế phòng vệ miễn dịch và sản xuất kháng thể;

(4) Tham gia vào quá trình điều hòa đông máu và tiêu fibrin.

Do vậy, Định lượng protein toàn phần cho biết khái quát nồng độ protein lưu hành trong cơ thể. Trước bất kỳ một trường hợp tăng hay giảm protein cần tiến hành các xét nghiệm bổ sung để tìm kiếm nguyên nhân. (Điện di protein huyết thanh; điện di miễn dịch các protein huyết thanh và định lượng các globulin miễn dịch...)

2. Nguyên tắc: Phản ứng Biure: Trong môi trường kiềm, những phân tử có từ 2 liên kết peptid trở nên sẽ tạo phức chất với ion Cu^{++} .

Protein trong huyết thanh tác dụng với ion Cu^{++} trong môi trường kiềm tạo phức chất càng cua màu xanh tím. Độ đậm của màu tỷ lệ trực tiếp với nồng độ protein trong mẫu bệnh phẩm.

3. Hóa chất:

- Hóa chất định lượng protein R1, R2
- Hóa chất chuẩn (Calibration)
- Hóa chất kiểm tra chất lượng SERUM 1 và SERUM 2.

4. Bệnh phẩm:

Huyết thanh/ huyết tương chống đông bằng heparin (không nhất thiết yêu cầu bệnh nhân nhịn ăn trước khi lấy máu).

* Tiến hành:

	Ống trắng	Ống chuẩn	Ống bệnh phẩm
Thuốc thử	1ml	1ml	1ml
Dung dịch chuẩn		20 μ l	
Bệnh phẩm			20 μ l
Lắc đều, ủ 5 phút ở 37 ⁰ C			
Đọc ở bước sóng 546nm			

* Tính toán

$$K = \frac{C \text{ chuẩn}}{E \text{ (chuẩn- trắng)}}$$

$$C \text{ bệnh phẩm} = K * E \text{ (bệnh phẩm - trắng)}$$

5. Biện luận kết quả:

✓ Trị số bình thường: 65 - 85 g/l

✓ Tăng:

- Khi mất nước cơ thể, gây cô đặc máu: nôn, ra chảy, sốt cao.

- Thiếu năng vỏ thượng thận.

- Đa u tủy xương, collagen

✓ Giảm: Phần lớn là giảm albumin, dấu hiệu là phù. Do: Thiếu hụt sự

tổng hợp: suy gan nặng, xơ gan

- Thiếu dinh dưỡng.

- Hấp thu protein kém

- Hội chứng mất protein: các bệnh về thận

- Bệnh tăng huỷ hoại protein. suy kiệt do ung thư, ĐTĐ nặng.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Phương pháp định lượng protein là

a. Phương pháp so màu

b. Phương pháp enzym so màu

- c. Phương pháp động học enzym.
- 2. Protein giảm ở bệnh nhân suy giảm chức năng gan (suy gan, xơ gan) là do:
 - a. Mất protein
 - b. Giảm tổng hợp albumin
 - c. Cả hai ý trên
- 3. Trong các bệnh lý sau đây, bệnh nào gây giảm protein
 - a. Thận hư
 - b. Bỏng nặng
 - c. Mất máu cấp
 - d. Ung thư
 - e. Tất cả các trường hợp trên

Bài 15 : KỸ THUẬT ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN

TS.BS. Lê Thị Hương Lan

CN Nguyễn Thu Hà

Mục tiêu bài học:

1. Trình bày phương pháp định lượng cholesterol, biết được cholesterol và tăng giảm trong những bệnh lý nào

3. Tiến hành được xét nghiệm cholesterol trên máy bán tự động, tự động AU-400.

I. ĐẠI CƯƠNG

Các phân tử lipid đơn giản ở máu là:

1. Các acid béo
2. Các triglycerid
3. Các sterid (gồm cholesterol và este của cholesterol)
4. Các phospholipid

II. ĐỊNH LƯỢNG CHOLESTEROL TOÀN PHẦN TRONG HUYẾT THANH/HUYẾT TƯƠNG.

Thành phần lipid chính trong hệ tuần hoàn (cholesterol, triglycerid, phospholipid), các chất này không tan trong máu. Để có thể lưu hành trong tuần hoàn, các chất này phải được gắn với các protein có thể tan trong nước gọi là các apolipoprotein (A1, A2, B, C, E..).

Lipid + Apolipoprotein hình thành các nhóm lipoprotein. Có 4 loại lipoprotein:

1. Các vi thể dưỡng chấp (chylomycron).
2. VLDL (Lipoprotein có tỷ trọng rất thấp (very low density Lipoproteins).
3. LDL (Lipoprotein có tỷ trọng thấp low density Lipoproteins).
4. HDL (Lipoprotein có tỷ trọng cao high density Lipoproteins).

Cholesterol lưu hành trong tuần hoàn có 2 nguồn gốc

* Ngoại sinh:

Có nguồn gốc từ thức ăn khoảng 50mg tới 3 g mỗi ngày, chủ yếu dưới dạng este hóa. Khi đi qua tá tràng, cholesterol được thủy phân nhờ lipase của tụy (cholesterol esterase) thành cholesterol + Acid béo tự do rồi được các tế bào ruột hấp thu nhờ tác động của acid mật. Trong các tế bào của ống tiêu hóa, cholesterol được kết hợp với chylomicron và các VLDL ruột. Các Lipoprotein có vai trò vận chuyển cholesterol trong ống ngực rồi tới dòng tuần hoàn.

* Nội sinh: Nhiều mô (Chủ yếu là do gan và ruột) tổng hợp cholesterol từ acetyl CoA. Sau khi được tổng hợp cholesterol được gắn với các lipoprotein để có thể vận chuyển vào dòng tuần hoàn.

Cholesterol kết hợp với các lipoprotein:

+ LDL - cholesterol: sẽ vận chuyển cholesterol từ gan tới các mô (tuyến thượng thận, tế bào nội mạc mạch máu) do vậy, có nguy cơ tạo ra các mảng lắng đọng gây xơ vữa động mạch. (cholesterol xấu).

+ HDL – cholesterol: vận chuyển từ các mô ngoại vi tới gan để được dị hóa tại gan (cholesterol tốt).

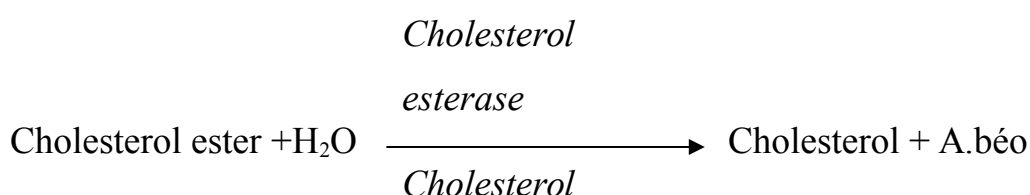
Mục đích và chỉ định xét nghiệm cholesterol, triglyxerid để:

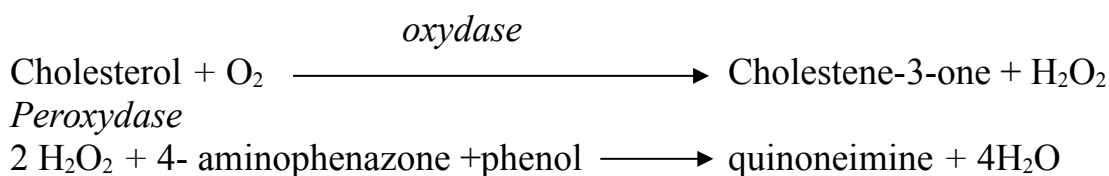
- (1) Xác định tình trạng rối loạn chuyển hóa lipoprotein máu
- (2) Đánh giá nguy cơ hình thành mảng xơ vữa động mạch
- (3) Nghiên cứu chức năng của gan
- (4) Hỗ trợ chẩn đoán các tình trạng rối loạn chức năng tuyến giáp.

1. Nguyên lý của xét nghiệm:

Cholesterol toàn phần trong huyết thanh/huyết tương gồm cholesterol tự do và cholesterol este hoá. Có nhiều nguyên lý khác nhau dựa trên các phản ứng hoá học khác nhau để định lượng cholesterol. Do vậy, thành phần hoá chất định lượng cholesterol của các công ty có thể khác nhau, (có thể điều này quyết định tính ổn định và sự bền vững của thuốc thử). Muốn định lượng cholesterol toàn phần thì phải chuyển phần cholesterol este thành cholesterol tự do, nhờ phản ứng thủy phân làm cắt đứt liên kết este:

Sau đây là nguyên lý của thuốc thử hiện đang được sử dụng tại khoa Hóa sinh BV Đa khoa trung ương Thái Nguyên):





Phức hợp màu tạo thành là quinoneimine có màu hồng. Độ đậm màu tỷ lệ với nồng độ của cholesterol. Như vậy cholesterol được định lượng theo phương pháp enzym so màu, theo kỹ thuật đo điểm cuối có thể được đo trên máy quang kế hoặc quang phổ kế tại bước sóng từ 500 đến 546 nm.

2. Thành phần của thuốc thử

Thuốc thử: Gồm các thành phần sau:

Đệm phosphate PA	100mmol/l
4- aminophenazone	0,3 mmol/l
Phenol	5 mmol/l
Peroxydase	>5 KU/I
Cholesterol esterase	>150 KU/I
Cholesterol oxydase	> 100KU/I
Sodium azide	0,05%

Thuốc thử phần lớn các công ty bán trên thị trường hiện nay là loại thuốc thử dùng ngay.

Dung dịch chuẩn (standard): có nồng độ 200mg/dl (5,17 mmol/l)

*/ Bệnh phẩm: Huyết thanh/huyết tương chống đông heparin; bệnh nhân cần được nhịn ăn 12h trước khi lấy máu; không nên uống rượu trong vòng **24h**.

3. Tiến hành xét nghiệm

Dùng 3 ống nghiệm:

	Ống trắng	Ống chuẩn	Ống bệnh phẩm
Thuốc thử	1000μl	1000μl	1000μl
Dung dịch chuẩn (standard)		10μl	

Huyết thanh/huyết tương			10 μ l
-------------------------	--	--	------------

Lắc đều, ủ ở nhiệt độ 37⁰C trong 5 phút và 10 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó đọc trên máy quang kế ở bước sóng 546 mm (hoặc 500nm), theo phương pháp đo điểm cuối (end point).

4. Nhận định kết quả

Trị số triglycerid bình thường trong khoảng: 0,46 - 1,88 mmol/l.

Sự tăng nồng độ của triglycerid cùng với cholesterol là hai thông số chủ yếu trong thăm dò và nhận định nguy cơ vữa xơ động mạch. Sự tăng nồng độ của triglycerid chứng tỏ trong lipoprotein có chứa nhiều VLDL và chylomicron.

Triglycerid có thể tăng trong một số trường hợp: đái tháo đường, bệnh goute (thống phong), hội chứng rối loạn lipid mang tính gia đình (familial syndrome), bệnh suy giáp bẩm sinh, hội chứng Cushing, bệnh nhân dùng corticoid dài ngày, phụ nữ dùng thuốc tránh thai có hormon sinh dục nữ dài ngày.

Khi kết quả của hai thông số cholesterol và triglycerid tăng cao nên làm thêm một số xét nghiệm khác như HDL-cholesterol; LDL-cholesterol; apoA; apoB để giúp chẩn đoán và theo dõi điều trị.

LDL-cholesterol được tính gián tiếp theo công thức của Friedewald như sau:

LDL-cholesterol (mmol/L): cholesterol TF - (triglycerid/2,2 +HDL-cholesterol)

LDL-cholesterol (mg/dl): cholesterol TF - (triglycerid/5 +HDL-cholesterol)

Với điều kiện triglycerid <4,5 mmol/l

LƯỢNG GIÁ CUỐI BÀI

Chọn ý đúng nhất:

Câu 1: Để định lượng nồng độ cholesterol chính xác bệnh nhân cần được nhịn ăn:

- 6h
- 12h

c. 24h

Câu 2: Phương pháp định lượng cholesterol là

- a. Enzym so màu
- b. So màu
- c. Động học enzym

Câu 3: Bệnh nhân basedow nồng độ Cholesterol

- a. Tăng
- b. Giảm mạnh
- c. Không thay đổi

Câu 4. Bệnh nhân có rối loạn lipid thì:

- a. Tăng Cholesterol
- b. Tăng Triglyxerid
- c. Có thể chỉ tăng Cholesterol hoặc triglyxerid hoặc tăng cả hai Cholesterol và triglyxerid.

Câu 5: Chọn hóa chất định lượng cholesterol:

- a. R1 cholesterol (một hóa chất)
- b. R1, R2
- c. R1 và satandar cholesterol hoặc R1 và Diacal auto (hóa chất và chất chuẩn).

Bài16:

ĐỊNH LƯỢNG TRIGLYXERID HUYẾT THANH/HUYẾT TƯƠNG

Mục tiêu bài học:

1. Trình bày phương pháp định lượng triglyxerid, biết được triglyxerid và tăng giảm trong những bệnh lý nào

2. Tiến hành được xét nghiệm triglyxerid trên máy bán tự động, tự động AU-400.

1. Tóm tắt: Thành phần lipid chính trong hệ tuần hoàn (cholesterol, triglyxerid, phospholipid), các chất này không tan trong máu. Để có thể lưu hành trong tuần hoàn, các chất này phải được gắn với các protein có thể tan trong nước gọi là các apolipoprotein (A1, A2, B, C, E..).

Lipid + Appolipoprotein hình thành các nhóm lipoprotein. Có 4 loại lipoprotein:

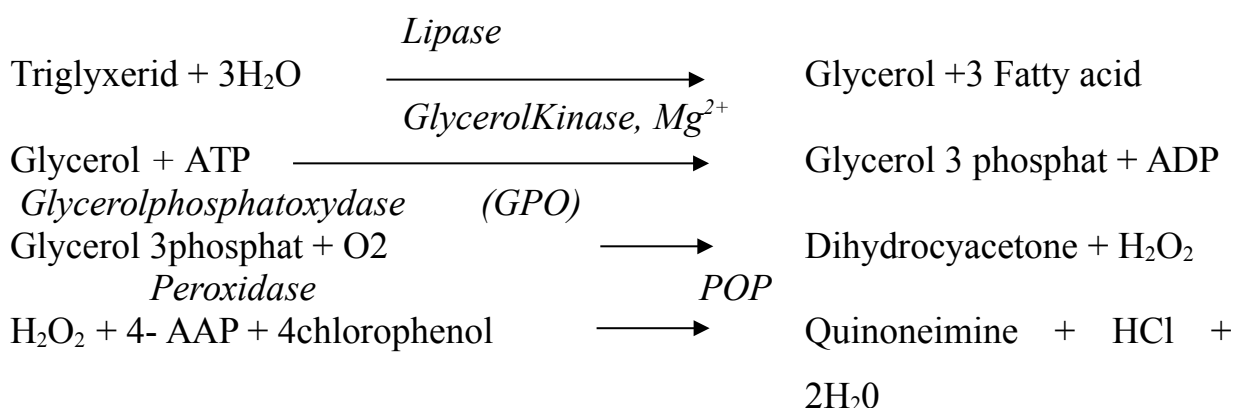
5. Các vi thể dưỡng chấp (chylomycron).
6. VLDL (Lipoprotein có tỷ trọng rất thấp (very low density Lipoproteins).
7. LDL (Lipoprotein có tỷ trọng thấp low density Lipoproteins).
8. HDL (Lipoprotein có tỷ trọng cao high density Lipoproteins).

triglyxerid lưu hành trong tuần hoàn có 2 nguồn gốc

* Ngoại sinh: Có nguồn gốc từ thức ăn

* Nội sinh: Nhiều mô (Chủ yếu là do gan và ruột)

2. Nguyên tắc:



Phức hợp màu tạo thành là quinoneimine có màu hồng. Độ đậm màu tỷ lệ với nồng độ của triglyxerid.

3. Hóa chất:

- Hóa chất triglyxerid cho máy bán tự động
- Máy tự động: Hóa chất R1, R2 đã sẵn sàng cho việc sử dụng. Ổn định đến hết hạn sử dụng; bảo quản nhiệt độ 2 – 8°C; mở nắp hóa chất đặt vào thiết bị ổn định trong vòng 30 ngày.
- Chuẩn calibrator, huyết thanh kiểm tra: SERUM 1 và SERUM 2

4. Bệnh phẩm: Huyết thanh, huyết tương chống đông heparin, EDTA, ổn định 5- 7 ngày ở 2 – 25°C.

5. Tiến hành:

* Tiến hành trên máy bán tự động

	Ống trắng	Ống chuẩn	Ống bệnh phẩm
Thuốc thử	2ml	2ml	2ml
Dung dịch chuẩn		20 μ l	
Bệnh phẩm			20 μ l
Lắc đều, ủ 5 phút ở 37 $^{\circ}$ C			
Đọc ở bước sóng 546nm			

~ Tính toán:

$$K = \frac{C \text{ chuẩn}}{E \text{ (chuẩn- trắng)}}$$

$$C \text{ bệnh phẩm} = K * E \text{ (bệnh phẩm - trắng)}$$

Máy tự động:

- Parameter: W: 520 - 600 nm; slope : +; Method: END
- Point: 20-27; Dynamic range: 0.4 – 27.9 mmol/L.
- Chuẩn: (AB); $y = AX + B$; C(vị trí: 1) =
- Kiểm tra chất lượng: sử dụng control SERUM 1 VÀ 2 tra bảng trong giới hạn $\pm 1SD$ là tốt nhất.
- Dán code mã hóa theo phiếu
- Duyệt mẫu trên medisof
- Xếp mẫu máu vào rack đưa vào máy phân tích.

6. Nhận định kết quả:

6.1. Giá trị bình thường:

0.46 – 1.8 mmol/l

6.2. Giá trị bệnh lý: tăng trong rối loạn chuyển hóa lipid nguyên phát hoặc thứ phát trong các bệnh: thận hư nhiễm mỡ, đái tháo đường, viêm tụy cấp, tăng HA

7. Vai trò của xét nghiệm xác định hoạt độ triglycerid

- (1) Xác định tình trạng rối loạn chuyển hóa lipoprotein máu
- (2) Đánh giá nguy cơ hình thành mảng xơ vữa động mạch
- (3) Nghiên cứu chức năng của gan
- (4) Hỗ trợ chẩn đoán các tình trạng rối loạn chức năng tụy giáp.

8. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm:

- Bệnh phẩm vỡ hồng cầu
- Một số thuốc gây tăng triglycerid: thuốc tránh thai....

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Để có kết quả cholesterol và triglycerid chính xác, khi lấy mẫu máu xét nghiệm bệnh nhân phải ở các thời điểm sau:

- a. 2h sau ăn
- b. 4h sau ăn
- c. 6h sau ăn
- d. 12h sau ăn

2. Mẫu bệnh phẩm để định lượng cholesterol và triglycerid có thể là:

- a. Huyết thanh
- b. Huyết tương
- c. Máu toàn phần
- d. cả a và b

3. Bệnh nhân bị Basedow nồng độ cholesterol có thể:

- a. Bình thường
- b. Tăng
- c. Giảm

4. Có thể tính gián tiếp được trị số LDL cho biết khi nồng độ của cholesterol toàn phần, triglycerid và HDL cho với mọi giá trị.

- a. Đúng
- b. Sai

5. Khi nồng độ cholesterol và triglycerid cao là biểu hiện của sự rối loạn các thành phần của lipid máu.

- a. Đúng
- b. Sai

6. Bệnh phẩm huyết thanh, huyết tương đục như sữa chứng tỏ:

- a. Tăng triglycerid
- b. Tăng HDL- C
- c. Tăng Cholesterol

7. Để đánh giá tình trạng rối loạn lipid máu cần xét nghiệm:

- a. Cholesteron
- b. Triglycerid
- c. HDL- C, LDL – C và Apo A, Apo B
- d. Cả a,b,c

8. Tình trạng tăng cao triglyxerid gây ảnh hưởng đến một số các xét nghiệm khác.

a. Đúng

b. Sai.

Bài 17:

XÁC ĐỊNH HOẠT ĐỘ GOT VÀ GPT TRONG HUYẾT THANH

TS.BS Lê Thị Hương Lan

Mục tiêu bài học:

1. Trình bày được kỹ thuật xác định hoạt độ GOT và GPT trong huyết thanh: Thao tác kỹ thuật đúng, chính xác.
2. Trình bày được vai trò của các xét nghiệm này trong chẩn đoán một số bệnh lý.

I. Đại cương:

Transaminase là nhóm enzym vận chuyển nhóm amin từ 1 acid α ceton. Tên viết tắt và tên đầy đủ như sau:

GOT: Glutamat oxaloacetat Transaminase hay AST: Aspartat aminotransferase.

GPT: Glutamat pyruvat Transaminase hay ALT: Alanin aminotransferase.

AST vận chuyển nhóm quán từ acid α amin Aspartat sang acid α ceton là α -cetoglutarat tạo ra acid amin mới là Glutamat. Tương tự như vậy đối với ALT:



Phân bố trong cơ thể.

- AST: có 2 nơi cư trú: ty lạp thể và tương bào, Tồn tại trong các cơ quan tim, gan, cơ xương, thận, hồng cầu, tiểu cầu và tụy tạng.

- ALT: ALT có thời gian bán hủy trong máu là 47h. Chúng có mặt duy nhất trong bào tương của tế bào và thấy trong các cơ quan gan, thận, tim và cơ xương.

* Mục đích và chỉ định xét nghiệm:

Xác định hoạt độ AST, ALT giúp đánh giá tình trạng hủy hoại tế bào nhất là các tế bào có nguồn gốc gan, cơ tim hay cơ vân do vậy xét nghiệm chỉ định để:

- (1) Đánh giá tổn thương gan
- (2) Theo dõi tác động độc trên tế bào gan của các loại thuốc sử dụng có nguy cơ gây độc cho gan.
- (3) Đánh giá tình trạng tổn thương cơ tim trong nhồi máu cơ tim.

Chú ý:

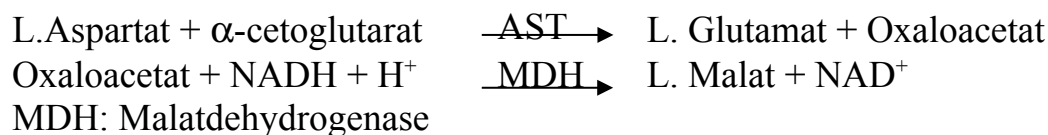
- Sau khi lấy mẫu cần tách huyết thanh/huyết tương ra khỏi hồng cầu sớm tránh hiện tượng vỡ hồng cầu gây sai số.
- Muốn đánh giá tình trạng nhồi máu cơ tim cần xác định hoạt độ AST, ALT trong vòng 3 ngày liên tiếp và làm lại sau 1 tuần để đánh giá.

II. Tiến hành

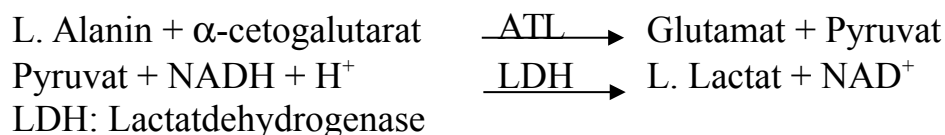
Phương pháp: động học enzym, theo nguyên tắc sau

1. Nguyên tắc xác định hoạt độ AST và ALT

- AST:



- ALT:



2. Hóa chất: gồm 2 thuốc thử với thành phần và nồng độ như sau:

- AST:

R1:	TRIS Buffer (pH 7.8)	80 mmol/l
	L. Aspartat	240 mmol/l
	MDH	≥ 1200 U/l
R2:	α -cetoglutarat	15 mmol/l
	NADH	0.18 mmol/l

- ALT:

R1:	TRIS Buffer (pH 7.5)	100 mmol/l
	L. Alanin	500 mmol/l
	LDH	≥ 1200 U/l
R2:	α -cetoglutarat	15 mmol/l
	NADH	0.18 mmol/l

Thuốc thử R1 và R2 được pha với nhau theo tỷ lệ 4: 1

Bảo quản: 1 tháng ở 2- 8 °C

5 ngày ở 18 - 25°C

3. Bệnh phẩm

- Huyết thanh: không vỡ hồng cầu

- Huyết tương chống đông bằng EDTA hoặc heparin

4. Tiến hành: AST và ALT có thể đo trên máy bán tự động và tự động. Ở đây xin giới thiệu cách đo trên máy bán tự động theo qui trình sau:

- Bước sóng: 340 nm
- Nhiệt độ: 37°C
- Tráng với nước cất
- Thuốc thử: 1 ml

Bệnh phẩm: 100 µl

Trộn đều, ủ 1 phút. Đo sự thay đổi mật độ quang mỗi phút, trong 3 phút.

5. Tính kết quả: Ở mỗi nhiệt độ khác nhau thì cách tích kết quả khác nhau:

Bước sóng 340 nm: Hoạt độ U/l ở 37°C = $\Delta OD / \text{phút} \times 1745$

6. Nhận định kết quả:

* Bình thường:

Nam: AST < 37 ; ALT < 40 U/l / 37°

Nữ: AST < 31 ; ALT < 37 U/l / 37°

* Tăng:

- Bệnh tim:

* Nhồi máu cơ tim (NMCT): chủ yếu tăng AST, ALT cũng tăng, De Ritis > 1. Enzym tăng sớm sau 4-6 giờ, cao nhất từ 16-48h rồi giảm dần. TB tăng gấp 7 lần.

* Phẫu thuật tim

* Suy tim cấp

* Thấp tim cấp

* Sau chụp mạch, thông tim, các thủ thuật can thiệp tim mạch...

- Bệnh gan:

* Viêm gan virus (VGVR): tăng cả AST và ALT nhưng ALT tăng nhiều hơn, De Ritis < 1. Có thể vàng da hoặc không.

* VG nhiễm độc: rượu, thuốc hoặc hoá chất.

* VG mãn:

* XG: do rượu hoặc do tắc mật (viêm đường mật cấp hoặc mạn)

* Tắc mật cấp (do sỏi)

* K gan nguyên phát: AST tăng nhiều hơn ALT, De Ritis > 2-3

- Bệnh cơ: loạn dưỡng cơ, viêm da cơ, chấn thương gây tổn thương cơ...

Câu hỏi lượng giá:

1. Phương pháp định hoạt độ enzym AST và ALT là phương pháp:
 - a. Động học enzym
 - b. Enzym so màu
 - c. So màu
2. Bệnh phẩm thích hợp để định hoạt độ AST và ATL là:
 - a. Huyết thanh
 - b. Huyết tương
 - c. Cả hai phương án trên
3. Yếu tố nào sau đây ảnh hưởng đến kết quả hoạt độ AST và ALT
 - a. Huyết thanh đục
 - b. Máu vỡ hồng cầu
 - c. Không yếu tố nào gây ảnh hưởng
4. Hoạt độ AST và ALT có thể thay đổi trong những bệnh lý nào sau đây:
 - a. Nhồi máu cơ tim cấp
 - b. Viêm gan cấp do virus
 - c. Viêm gan do nhiễm độc.
 - d. Tất cả ý trên
5. Hoạt độ enzym tăng AST 400 U/l/37°C; ALT 500 U/l/37°C phải pha loãng.
 - a. Đúng
 - b. Sai
6. Khi phân tích mẫu máu bệnh nhân cho kết quả: AST: 5 U/l/37°C ; ALT 390 U/l/37°C. Thiết bị cảnh báo mẫu xét nghiệm không tuyến tính.
 - a. Ghi kết quả vào phiếu trả cho bệnh nhân
 - b. Pha loãng bệnh phẩm, phân tích mẫu lại, kết quả nhân độ pha loãng rồi ghi vào phiếu.

7. Bệnh nhân sử dụng 4 viên paracetamol/ngày, sau 2 ngày thấy mệt mỏi nhiều và đau hạ sườn phải. Kết quả xác định hoạt độ AST: 1500 U/l/37°C ; ALT: 2000 U/l/37°C.

a. Máy phân tích sai

b. Bệnh nhân bị tổn thương gan do thuốc.

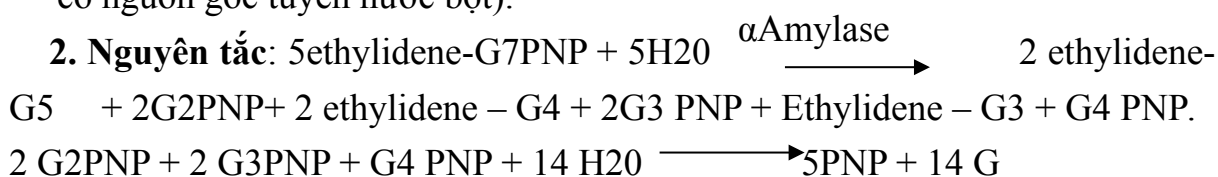
Bài 18: XÁC ĐỊNH HOẠT ĐỘ AMYLASE MÁU

Mục tiêu bài học:

1. Trình bày được nguồn gốc, vai trò của xét nghiệm amylase trong huyết thanh, huyết tương.
2. Tiến hành được xét nghiệm xác định hoạt độ amylase trên máy bán tự động

1. Đại cương

- Amylase máu là enzym được sản xuất chủ yếu ở tụy và các tuyến nước bọt và một lượng nhỏ ở gan, ruột và buồng trứng.
- Amylase có vai trò trong quá trình tiêu hóa carbohydrat phức tạp thành đường đơn. Có thể xác định hoạt độ amylase trong huyết thanh, các dịch sinh học của cơ thể.
- **Amylase có 2 izozym là :** P- Amylase (có nguồn gốc tụy) và S- Amylase (có nguồn gốc tuyến nước bọt).



(PNP: p- Nitrophenol; G: Glucose)

3. Hóa chất

- Hóa chất dùng trên máy bán tự động: thông thường là loại hóa chất đơn, đã sẵn sàng cho việc sử dụng. Bảo quản 2- 8 °C đến hết hạn, khi mở hộp ổn định 30 ngày.
- Hóa chất sử dụng cho máy tự động: Hóa chất R1,R2 đã sẵn sàng cho việc sử dụng. Ổn định đến hết hạn sử dụng; bảo quản nhiệt độ 2 – 8°C; mở nắp hóa chất đặt vào thiết bị ổn định trong vòng 90 ngày.

4. Bệnh phẩm: Huyết thanh, huyết tương chống đông heparin, ổn định 7 ngày ở 2 – 25°C.

5. Tiến hành

5.1. Máy sinh hóa bán tự động:

Sử dụng 3 ống nghiệm

	Ống trắng	Ống chuẩn	Ống bệnh phẩm
Thuốc thử	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l
Dung dịch chuẩn (standard)		20 μ l	
Huyết thanh/huyết tương			20 μ l

Trộn đều ủ 2 phút/37⁰C, rồi đo trên máy bán tự động ở bước sóng 450nm. kết quả đọc trên máy.

Đơn vị đo: U/L/37⁰C.

Chú ý: Nếu máy sử dụng chương trình đo theo hệ số của nhà sản xuất thì chỉ cần 2 ống, ống kiểm tra chất lượng và ống thử. Kết quả đọc trên máy

5.2. Máy sinh hóa tự động

- Parameter: W: 410-480 nm; slope : +; Method: RATE
- Point: 20-27; Dynamic range: 10-1500 U/L/37⁰C.
- Chuẩn: (MB); $y=AX+ B$; C(vị trí: 1.) =
- Kiểm tra chất lượng: sử dụng control (1) và (2) tra bảng trong giới hạn $\pm 1SD$ là tốt nhất.
- Dán code mã hóa theo phiếu
- Duyệt mẫu trên medisof
- Xếp mẫu máu vào rack đưa vào máy phân tích.
- **Khi thiết bị có cờ báo kết quả : @, p... (cần pha loãng bệnh phẩm chạy lại). Kết quả nhân độ pha loãng.**

6. Nhận định kết quả

6.1. Giá trị bình thường:

- Nam: 100U/l/37⁰C; Nữ : < 100 U/l/37⁰C.

6.2. Giá trị bệnh lý:

- Amylase tăng trong viêm tụy cấp, bắt đầu tăng từ 3-6h sau khi xảy ra tình trạng viêm tụy và đạt giá trị đỉnh sau 24h và trở về bình thường sau 2-3 ngày. Hoạt độ Amylase tăng >3 lần có giá trị chẩn đoán.
- **Amylase dịch >1000 U/l/37⁰C.** Gợi ý dịch có nguồn gốc tụy.
- Ngoài ra amylase tăng trong một số các trường hợp: viêm tuyến nước bọt mang tai, quai bị, nghiện rượu, tắc mật, thủng ruột non, ổ loét dạ dày tá tràng..., có thai, chửa ngoài tử cung vỡ, cường tuyến giáp, rối loạn lipid máu....

MỞ ĐẦU:

Chất lượng của các khoa xét nghiệm có ảnh hưởng quan trọng đến chất lượng của dịch vụ y tế. Bởi một kết quả xét nghiệm đúng giúp Bác sỹ chẩn đoán đúng, và có phác đồ điều trị kịp thời. Nếu kết quả xét nghiệm sai, bác sỹ lâm sàng bỏ sót chẩn đoán hoặc chẩn đoán sai gây hậu quả khôn lường, ảnh hưởng đến chất lượng điều trị thậm chí cả tính mạng người bệnh.

Kết quả xét nghiệm đạt được chất lượng là những kết quả thỏa mãn được hai yêu cầu sau đây:

- Đảm bảo được độ xác thực (accuracy), nghĩa là đúng như giá trị mà sự vật vốn có.

- Đảm bảo được độ chính xác (precision).

- Rất tiếc là, trên thực tế dù đã cố gắng rất cao, người làm xét nghiệm cũng không thể đạt tới đúng giá trị thực, mà chỉ có thể tiếp cận nó. Nghĩa là, chúng ta phải chấp nhận - ở mức độ nào đó - sự kém xác thực (inaccuracy) và sự kém chính xác (imprecision).

Một labo có năng lực phải phấn đấu để làm giảm độ *kém xác thực* và *độ kém chính xác* xuống mức thấp nhất; nghĩa là chúng ta phải không ngừng cải thiện chất lượng labo.

Làm thế nào để thực hiện được *mục tiêu không ngừng cải thiện chất lượng labo*? Sự phối hợp của các khoa xét nghiệm trong một *hệ thống quản lý chất lượng* có vai trò quan trọng như thế nào đối với việc thực hiện mục tiêu chất lượng nêu trên đây?

Muốn trả lời các câu hỏi này, cần phải hiểu đúng một số khái niệm liên quan đến chất lượng và quản lý chất lượng các khoa xét nghiệm.

1. Một số khái niệm

1.1. Đảm bảo chất lượng (quality assurance, QA)

Có nhiều cách định nghĩa về đảm bảo chất lượng, tùy theo tác giả nhưng mục tiêu cơ bản thì giống nhau.

Có tác giả định nghĩa QA bao gồm sự theo dõi mọi trạng huống công việc, từ việc xác định chính xác bệnh nhân đến việc đảm bảo chắc chắn rằng kết quả xét nghiệm đã được trao đến tay người thầy thuốc.

Chúng ta hiểu QA là một *hệ thống đầy đủ các đường lối, phương pháp và những thực hành cần thiết để đảm bảo cho các kết quả xét nghiệm có đủ độ tin cậy và độ xác thực; góp phần không ngừng cải thiện chất lượng và nâng cao uy tín của khoa xét nghiệm.*

Như vậy, việc đảm bảo kết quả xét nghiệm có đủ độ tin cậy và độ xác thực là *mục tiêu cụ thể* và không ngừng cải thiện chất lượng và uy tín của hàng (hay khoa xét nghiệm) là *mục tiêu tổng quát* của QA.

Trong những phần sau, chúng ta sẽ chỉ rõ các nội dung cụ thể của QA.

1.2. Kiểm tra chất lượng (quality control, QC).

Cũng có nhiều cách định nghĩa khác nhau, tùy theo tác giả; nhưng mục đích cơ bản thì giống nhau.

Có tác giả định nghĩa QC như là những phương pháp được áp dụng liên tục làm cơ sở để đảm bảo rằng một số xét nghiệm đang được thực hiện theo tiêu chuẩn cao nhất; nghĩa là được thực hiện thích hợp và cho ra những kết quả phù hợp.

Để dễ vận dụng vào công việc, chúng ta hiểu *QC bao gồm những phương pháp được sử dụng để đánh giá năng lực phân tích của phòng. QC là công cụ theo dõi liên tục và trực tiếp hoạt động xét nghiệm của phòng để có thể quyết định rằng các kết quả xét nghiệm có đủ chất lượng để trả về các khoa lâm sàng hay không.*

1.3. Đánh giá chất lượng (quality assessment, QAS).

Tương tự như QA và QC, cũng có những cách định nghĩa khác nhau về QAS.

Có tác giả định nghĩa QAS là phương pháp đánh giá chất lượng toàn bộ quá trình hoạt động của khoa xét nghiệm. Định nghĩa của ISO về đánh giá chất lượng như sau: "chất lượng là một phần của quản lý, chú trọng vào việc tạo lòng tin chỉ ra rằng những yêu cầu chất lượng đã được hoàn thành".

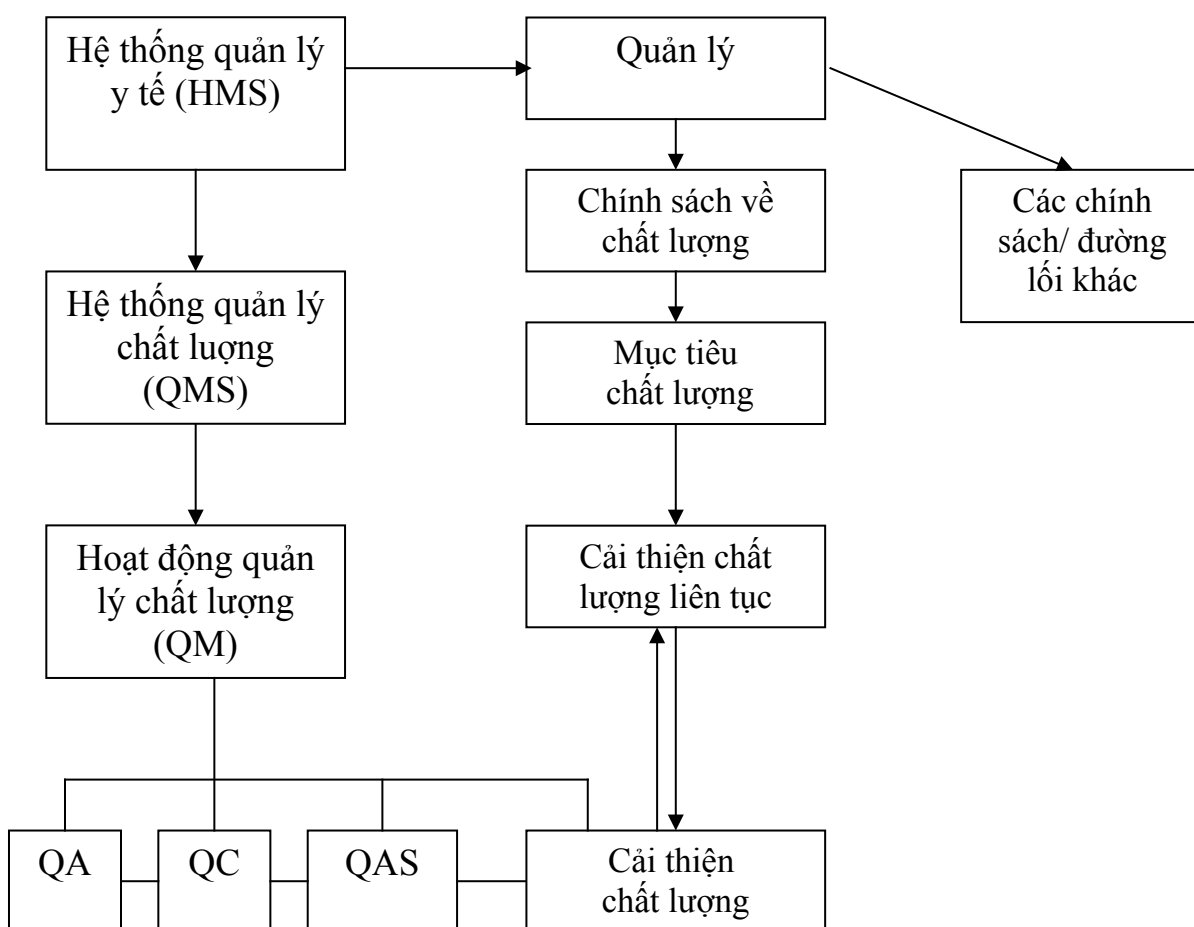
Để dễ vận dụng, chúng ta hiểu QAS là một hệ thống đánh giá định kỳ và hồi cứu năng lực của hàng hay khoa xét nghiệm, thông qua một cơ quan độc lập ở ngoài khoa/ labo.

Hoạt động QAS sẽ chỉ rõ những ưu điểm, những thiếu sót, và những gì cần phải cải tiến, những phương pháp QC cần phải thay đổi.

1.4. Quản lý chất lượng hay quản lý chất lượng toàn diện (quality management, toàn quality management - QM, TQM).

Quản lý chất lượng toàn diện là một bộ phận quan trọng trong quản lý hệ thống y tế. Hệ thống quản lý y tế (Health management system, HMS) thiết lập ra hệ thống quản lý chất lượng (QMS) để quản lý chất lượng của các dịch vụ y tế, trong đó có chất lượng của các làng y học.

Ta có thể sơ đồ hóa mối quan hệ giữa quản lý chất lượng toàn diện của hệ thống labo y học với quản lý hệ thống y tế như sau:



Hình 1: Mối quan hệ giữa hệ thống quản lý chất lượng với hệ thống quản lý y tế

1.5. Một số khái niệm khác liên quan đến quản lý chất lượng hệ thống xét nghiệm

* Cải thiện chất lượng (quality improvement, QI)

Có thể nói QI là mục tiêu tổng quát của hoạt động quản lý chất lượng (xem H.1)

* Cải thiện chất lượng liên tục (continual quality improvement, CQI)

CQI có thể coi là mục tiêu của chính sách về chất lượng y tế (xem H.1)
Làm tốt QI là cách thiết thực để đạt đến các tiêu chí của CQI. Ngược lại, nếu đạt được các tiêu chí của CQI thì các hoạt động quản lý chất lượng có điều kiện thuận lợi để đạt tới mục tiêu QI.

2. Nội dung của QA, QC, và QAS

2.1. Ba giai đoạn của quá trình xét nghiệm

Một quá trình xét nghiệm được chia thành ba giai đoạn: Trước phân tích, phân tích, và sau phân tích.

2.1.1. Giai đoạn trước phân tích

Có nhiều yếu tố ở giai đoạn này ảnh hưởng đến chất lượng của kết quả xét nghiệm, ví dụ: chuẩn bị bệnh nhân, chuẩn bị bệnh phẩm, gom mẫu xét nghiệm, đánh dấu bệnh phẩm, bảo quản bệnh phẩm, vận chuyển bệnh phẩm, loại bỏ bệnh phẩm không đạt yêu cầu, chỉ định xét nghiệm chính xác, ghi sổ sách chính xác, kiểm tra chất lượng máy và thuốc thử, ...

2.1.2. Giai đoạn phân tích

Giai đoạn này bao gồm những hoạt động chủ yếu sau đây:
Thực hiện xét nghiệm, đưa ra các kết quả xét nghiệm.
Trong giai đoạn này, có vô số yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng xét nghiệm. Do đó việc kiểm tra chất lượng cần được thực hiện nghiêm túc và đều đặn sớm phát hiện và sửa chữa những vấn đề chất lượng trong quá trình phân tích.

2.1.3. Giai đoạn sau phân tích

Một số hoạt động chính diễn ra trong giai đoạn này cần được lưu ý để tránh những sai sót đáng tiếc. Các nội dung chủ yếu là:

Phân tích kết quả xét nghiệm, đối chiếu kết quả xét nghiệm với các thông tin lâm sàng, xây dựng báo cáo (trả lời kết quả xét nghiệm), giải quyết khiếu nại của các khoa lâm sàng, ...

2.2. Nội dung của đảm bảo chất lượng (QA)

QA quan tâm đến toàn bộ quá trình phân tích (trước, trong và sau phân tích). Sự quan tâm ấy nhằm đạt đến mục tiêu không ngừng cải thiện chất lượng của khoa xét nghiệm; nghĩa là cố gắng làm giảm độ kém xác thực và độ kém chính xác của labo, nhằm đưa ra những kết quả xét nghiệm đạt tới các yêu cầu của lâm sàng, rất xấp xỉ giá trị thực.

Để đạt được các mục tiêu nêu trên, QA phải bao gồm hai yếu tố cơ bản sau đây:

2.2.1. Chương trình đảm bảo chất lượng (QA programme, QA scheme)

Một chương trình QA được thực hiện là một đảm bảo cho sự cố gắng cải thiện chất lượng khoa xét nghiệm được diễn ra không ngừng. Chương trình QA cần chú ý đến các nội dung quản lý và đánh giá sau đây:

- Đánh giá việc quản lý xét nghiệm
- Đánh giá hoạt động kiểm tra chất lượng (QC)
- Đánh giá kỹ năng xét nghiệm
- Phân tích so sánh kết quả xét nghiệm
- Đánh giá mối quan hệ giữa kết quả xét nghiệm và bệnh nhân.
- Đánh giá nhân lực
- Đánh giá hệ thống thông tin và truyền thông giữa khoa xét nghiệm và khoa lâm sàng.
- Đánh giá về các hoạt động thảo luận, trao đổi ý kiến giữa các thành viên trong khoa xét nghiệm.
- Quản lý và giải quyết các thắc mắc than phiền về xét nghiệm
- Mọi nội dung trên đều được xây dựng thành văn bản, xây dựng thành hồ sơ đầy đủ, hệ thống; và lưu trữ lại.

2.2.2. Cẩm nang đảm bảo chất lượng

Các cẩm nang sẽ cung cấp những hướng dẫn cụ thể, những tiêu chuẩn hành động cụ thể để thực hiện các nội dung của chương trình QA.

Như vậy, hệ thống cẩm nang bao gồm nhiều nội dung, như:

- Cung cấp thông tin về thực hiện chương trình QA.
- Cẩm nang về các phương pháp kỹ thuật
- Cẩm nang hướng dẫn thực hành và đánh giá kiểm tra chất lượng.
- Cẩm nang về đánh giá kỹ năng xét nghiệm
- Cẩm nang hướng dẫn về đánh giá nhân lực
- Cẩm nang hướng dẫn đánh giá QA
- Cẩm nang hướng dẫn về các bản ghi QA
- Cẩm nang quản lý xét nghiệm bệnh nhân
- Cẩm nang về các mẫu phiếu
- Cẩm nang về so sánh kết quả xét nghiệm
- Cẩm nang về mối quan hệ thông tin bệnh nhân với xét nghiệm
- Cẩm nang về trao đổi thông tin và truyền thông
- Cẩm nang hướng dẫn nghiên cứu vấn đề và thắc mắc
- Cẩm nang về bảo dưỡng dự phòng
- Cẩm nang về an toàn, kể cả an toàn sinh học
- Cẩm nang về đào tạo và đào tạo lại.
- Sau khi phân tích hai yếu tố chủ yếu của QA, ta dễ dàng nhận thấy rằng

QA bao gồm lĩnh vực của QC. Nói cách khác, QC là một trong những công cụ hữu hiệu để QA tác động vào thực tế nhằm đạt tới mục tiêu cải thiện chất lượng.

2.3. Nội dung của QC

2.3.1. Nội dung quản lý và kiểm tra của QC

QC quản lý và kiểm tra hai yếu tố có ý nghĩa quyết định đối với chất lượng xét nghiệm. Đó là:

- Độ chính xác
- Độ xác thực

Quản lý hai yếu tố này nhằm mục tiêu giảm độ kém chính xác (imprecision) và giảm độ kém xác thực (inaccuracy). Nhờ đó, có thể đảm bảo rằng kết quả phân tích đạt yêu cầu lâm sàng và xấp xỉ giá trị thực.

QC là hoạt động hàng ngày của mỗi khoa xét nghiệm, và là nội dung cơ bản khi thực hiện các chương trình đánh giá chất lượng.

2.3.2. Quy trình khái quát của QC

Một quá trình kiểm tra chất lượng thường trải qua mấy bước sau đây:

- (1) Chuẩn bị mẫu QC (quen gọi là huyết thanh kiểm tra)
- (2) Xác định các khoảng chấp nhận được (acceptable ranges)
- (3) Thực hiện cho tất cả các xét nghiệm
- (4) Thu thập dữ liệu (kết quả)
- (5) Phân tích kết quả: xử lý thống kê và biểu thị kết quả thành bảng, biểu đồ...
- (6) Chấp nhận hay đình chỉ hoạt động xét nghiệm
- (7) Khi phát hiện được những thay đổi, cần phải nghiên cứu để đưa ra giải pháp.

2.3.3. Nội kiểm tra chất lượng và ngoại kiểm tra chất lượng (IQC và EQC)

*** Nội kiểm tra chất lượng (IQC)**

Nội kiểm tra chất lượng bao gồm các phương pháp được thực hiện bởi chính labo/ khoa xét nghiệm để theo dõi trực tiếp và liên tục hoạt động của labo, nhằm đưa ra quyết định rằng kết quả xét nghiệm có đủ tin cậy để trả về các khoa lâm sàng hay không.

*** Ngoại kiểm tra chất lượng (EQC).**

Ngoại kiểm tra chất lượng là phương pháp QC đánh giá năng lực xét nghiệm của một labo hay một số labo thông qua một cơ quan kiểm tra chất lượng độc lập và ở ngoài các labo cần đánh giá chất lượng.

2.4. Nội dung của đánh giá chất lượng (QAS)

Một hệ thống đánh giá chất lượng được triển khai hoàn chỉnh phải tiến hành đánh giá mọi nội dung QA của khoa xét nghiệm hay của làng. Tuy nhiên,

bước đầu tiên có thể lập kế hoạch đánh giá khả thi là thiết lập các *kế hoạch đánh giá chất lượng mà công cụ đánh giá của nó là QC, EQC*.

Như vậy *then chốt của một kế hoạch đánh giá chất lượng (QAS scheme)* là một *chương trình ngoại kiểm tra chất lượng (External quality controo)*.

Vậy, một chương trình đánh giá chất lượng khả thi trong điều kiện thực tế của nước ta nên bao gồm những công việc gì? Dưới đây, tác giả liệt kê những nội dung chính, liên quan nhiều đến khía cạnh tác nghiệp của một chương trình đánh giá chất lượng.

2.4.1. Xác định rõ mục tiêu của kế hoạch đánh giá chất lượng (EQA scheme)

Sau khi định rõ mục tiêu của kế hoạch đánh giá chất lượng, cần xây dựng mô hình thực hiện.

Mô hình được WHO khuyến cáo áp dụng vào các nước đang phát triển là mô hình Trung tâm tổ chức kế hoạch EQA (viết tắt: TT EQA)

2.4.2. Xác định cấu trúc của TT EQA.

Tùy theo tình hình cụ thể, sơ đồ cấu trúc của TT EQA có thể vận dụng mềm dẻo để nâng cao tính khả thi của nó và phù hợp với đơn vị.

2.4.3. Lập kế hoạch và tổ chức kiểm tra

Đây là phần rất quan trọng, bao gồm mấy nội dung chính sau đây:

*** Kế hoạch khởi đầu**

Cần phân tích tình hình thực tế ở các cơ sở y tế, cùng với các nhà lãnh đạo y tế và các trưởng labo, cũng có thể rút kinh nghiệm từ các đợt làm thử, nhằm xác định một số yếu tố cần thiết, như:

- Các thông số đưa vào EQAS
- Số lần kiểm tra
- Mẫu kiểm tra (huyết thanh kiểm tra, ...), và số mẫu cho một lần kiểm tra.
- Nồng độ các chất kiểm tra
- Những xét nghiệm đặc biệt cần nghiên cứu

Thông thường, kiểm tra ít nhất 2 lần /1 năm; tốt nhất là làm 4 lần QAS 1/năm.

*** Lập thời gian biểu**

Phải đặt thời gian biểu sao cho bao quát được mọi đợt QAS, ít nhất bắt đầu 6 tháng trước đợt QAS thứ nhất. Thời gian biểu phải tính trước cả các ngày nghỉ, những biến động thời tiết, ... Các thời gian biểu chi tiết cho từng mặt hoạt động cũng cần được xây dựng đầy đủ.

* Đóng gói các mẫu kiểm tra theo đúng quy cách

* Vận chuyển mẫu kiểm tra

* Cần đảm bảo an toàn và đúng thời gian

* Xây dựng các loại hồ sơ

Một số hồ sơ thiết yếu sau đây cần được xây dựng:

- Mẫu bản ghi kiểm tra

- Phiếu đóng gói

- Nhãn

- Phiếu hướng dẫn

- Quy trình

- Phiếu gửi thông tin để ghi thời hạn nhận được báo cáo của các đơn vị thành viên tại trung tâm QAS; cũng nên ghi cả cách gửi trả báo cáo nữa.

- Thời hạn nhập dữ liệu và đánh giá

- Báo cáo kết quả kiểm tra

- Các bản ghi để tập hợp thông tin tích lũy lâu dài (historical records).

- Lưu trữ

Mọi thông tin về các đợt đánh giá (QAS), về các đơn vị tham gia và mọi hồ sơ về chất lượng phải được lưu giữ trong 5 năm.

- Các hồ sơ của TT QAS sử dụng cho các thành viên tham gia. Mỗi thành viên sẽ nhận được mọi thông tin và chỉ dẫn cần thiết về các hoạt động của Ban Tổ chức kế hoạch EQAS.

0 Các hồ sơ về đào tạo

3. Mỗi khoa xét nghiệm / mỗi labo là một đơn vị quản lý chất lượng và là một thành viên tích cực của các kế hoạch đánh giá chất lượng hoạt động xét nghiệm.

3.1. Đảm bảo chất lượng khoa xét nghiệm: sự sống còn của khoa xét nghiệm

Có thể nói việc đảm bảo chất lượng các hoạt động xét nghiệm là sự sống còn của labo, là đòi hỏi không ngừng nâng cao chất lượng của dịch vụ y tế và nghiên cứu y học.

Kết quả xét nghiệm là thứ hàng hoá đặc biệt mà người tiêu dùng (bệnh nhân) ít có hoặc không có khả năng lựa chọn; vì chính họ không dễ biết cái đúng/ sai nằm ngay ở sản phẩm hàng hoá ấy. Vì vậy, đảm bảo kết quả xét nghiệm chính xác và xác thực chẳng những thể hiện trách nhiệm của "người sản xuất" đối với khách hàng không có điều kiện lựa chọn, mà còn thể hiện khía cạnh đạo đức và phép ứng xử văn hoá của một labo đối với bệnh nhân của nó. Chất lượng của labo quyết định uy tín của nó. Nếu khách của một khoa xét nghiệm dần dần từ bỏ nó thì hậu quả sẽ thế nào? Ai cũng biết rất lo câu trả lời !

3.2. Nội dung quản lý chất lượng tại khoa xét nghiệm

Mỗi khoa xét nghiệm cần có các hoạt động QA, QC và QAS tại chỗ. QA là cái phải hoàn thiện từng bước. *QC là cái phải làm ngay* chừng nào còn làm xét nghiệm. Thực hiện QC tại khoa /labo gọi là nội kiểm tra chất lượng (intemal quality control, IQC). QAS tại chỗ khó thực hiện hơn, vì dễ bị những hạn chế do chủ quan hay thiếu năng lực đánh giá. Cần phải tham gia các hoạt động ngoại kiểm tra chất lượng (extemal quaility control, EQC) ở các quy mô khác nhau (khu vực, quốc gia, quốc tế) Đây chính là tham gia chương trình QAS (EQAS) ở giai đoạn đầu, khi chúng ta chưa thể kiểm tra toàn bộ hoạt động đảm bảo chất lượng (quality assurance, QA).

3.3. Vai trò của sự hợp tác giữa các khoa xét nghiệm

Vì mục tiêu không ngừng cải thiện chất lượng labo, mỗi khoa xét nghiệm không thể đứng độc lập trong lĩnh vực đánh giá chất lượng. Sự tự giác tham gia các kế hoạch đánh giá chất lượng (EQAS schemes), dưới sự điều hành của trung tâm QAS (Ban tổ chức chương trình EQAS), sẽ giúp cho labo thấy được những gì tồn tại được tư vấn sửa chữa; và nhờ đó mà hoàn thiện dần.

KẾT LUẬN

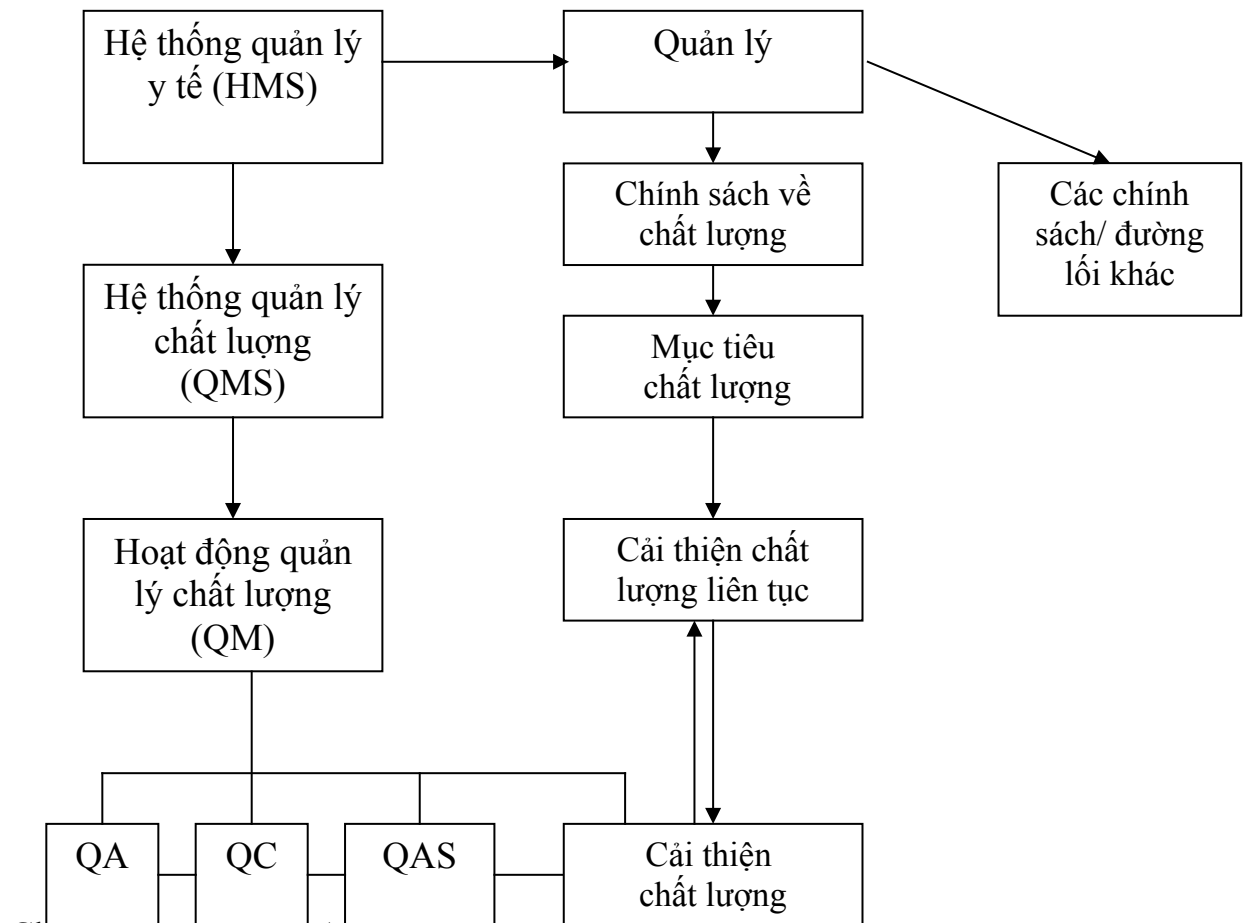
Không ngừng cải thiện chất lượng xét nghiệm là mục tiêu có ý nghĩa chiến lược của các khoa xét nghiệm /các labo lâm sàng. Muốn đạt được mục tiêu

ấy, các khoa xét nghiệm /các labo lâm sàng cần phải thực hiện các chương trình đảm bảo chất lượng (QA) và thực hiện hàng ngày các hoạt động kiểm tra chất lượng (QC) theo những quy chuẩn nhất định. Đồng thời, các khoa /các labo ấy cần phải nỗ lực tham gia các kế hoạch đánh giá chất lượng (QAS schemes) nhằm phát hiện và tìm cách khắc phục tốt nhất các yếu kém của mình.

Hệ thống quản lý chất lượng (QMS) các dịch vụ y tế, trong đó có quản lý chất lượng các hoạt động y học cận lâm sàng, thiết lập ra mạng lưới đánh giá chất lượng (QAS- Network) làm công cụ quản lý chất lượng hữu hiệu nhất, giúp cho việc cấp giấy phép hành nghề và cấp tín chỉ cho các cơ sở cận lâm sàng, dựa trên những tiêu chuẩn chất lượng cụ thể của các labo lâm sàng sẽ được ban hành trong thời gian sắp tới.

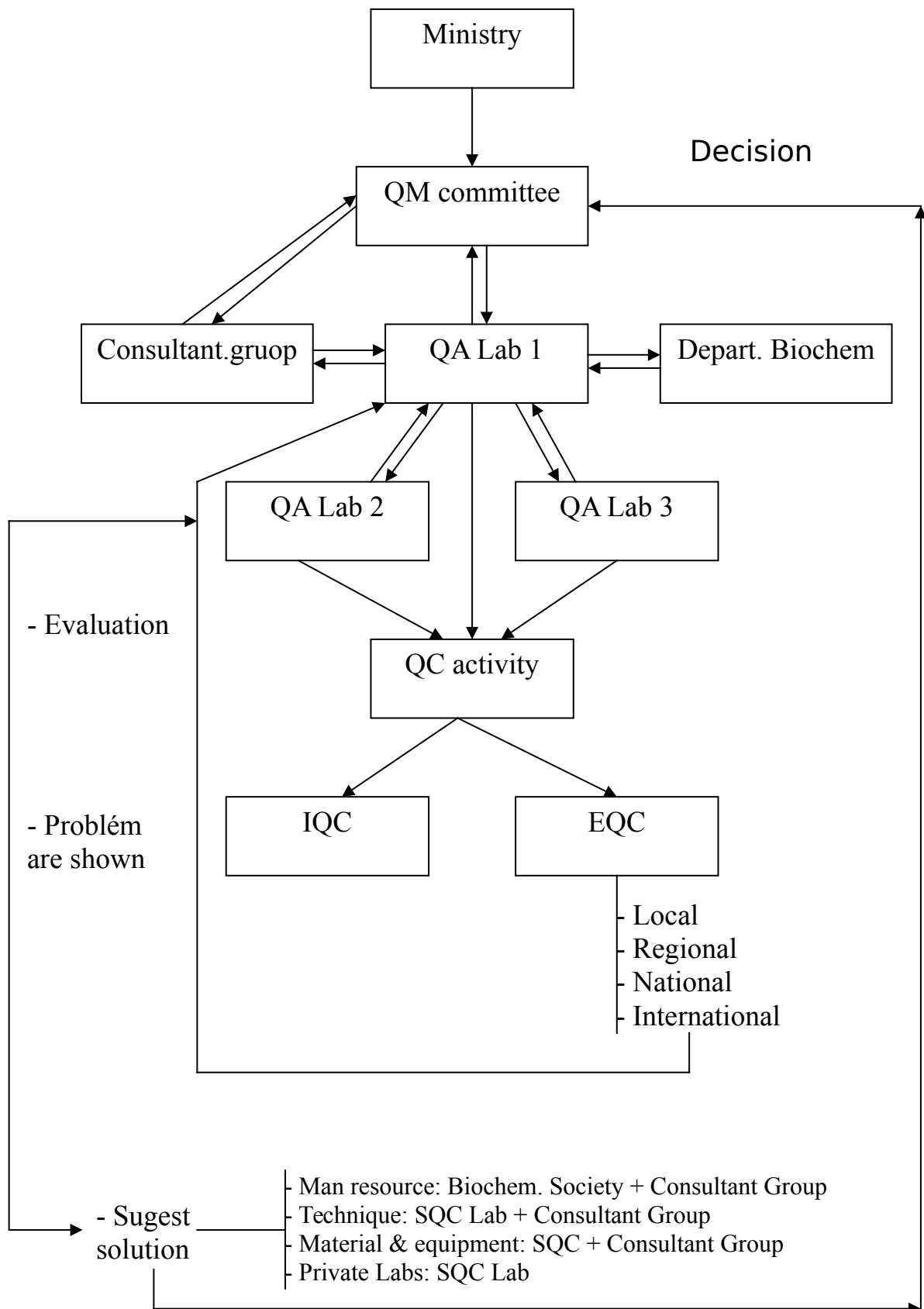
II. Hệ thống quản lý chất lượng phòng xét nghiệm:

2.1. Mô hình quản lý chất lượng phòng xét nghiệm



Chú thích: QA: quality assurance
 QC: quality control
 QAS: quality assenment

H.1: Mối quan hệ giữa hệ thống quản lý chất lượng với hệ thống quản lý y tế



H.2. Hệ thống quản lý chất lượng các hoạt động xét nghiệm lâm sàng
 Trên hình 2 ta thấy xương sống của hệ thống này là Ban bảo đảm chất lượng hoá sinh lâm sàng (Ban kiểm chuẩn) và ba phòng thí nghiệm đảm bảo

chất lượng (lab of QA). Mỗi phòng xét nghiệm đó được đặt tại một khoa xét nghiệm lớn nhất và có uy tín nhất của mỗi miền Bắc, Trung, Nam để làm nhiệm vụ quản lý chất lượng các khoa xét nghiệm hoá sinh lâm sàng tại khu vực.

2.2. Nhiệm vụ của hệ thống quản lý chất lượng

Thực hiện các nhiệm vụ của Ban Kiểm chuẩn đã ghi tại quyết định số 82 ngày 6101/1998 của Bộ trưởng Bộ Y tế.

1) *Xây dựng và trình Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành tiêu chuẩn kiểm tra chất lượng xét nghiệm hoá sinh lâm sàng.*

2) *Tổ chức kiểm tra bảo đảm chất lượng xét nghiệm hoá sinh lâm sàng trong các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh trong cả nước, giúp đỡ về chuyên môn, kỹ thuật cho các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh trong việc nâng cao chất lượng nghiệm sinh hoá lâm sàng.*

3) *Nghiên cứu và trình Bộ trưởng phê duyệt việc áp dụng các kỹ thuật mới xong công tác hoá sinh lâm sàng.*

4) *Tư vấn cho Bộ Y tế về phương pháp phát triển ngành hoá sinh lâm sàng theo mục tiêu hiện đại hoá phù hợp với sự phát triển kinh tế- xã hội của Việt Nam.*

Nhiệm vụ tổng quát của hệ thống này là quản lý chất lượng hệ thống xét nghiệm lâm sàng.

3. Mạng lưới đánh giá chất lượng các Labo lâm sàng

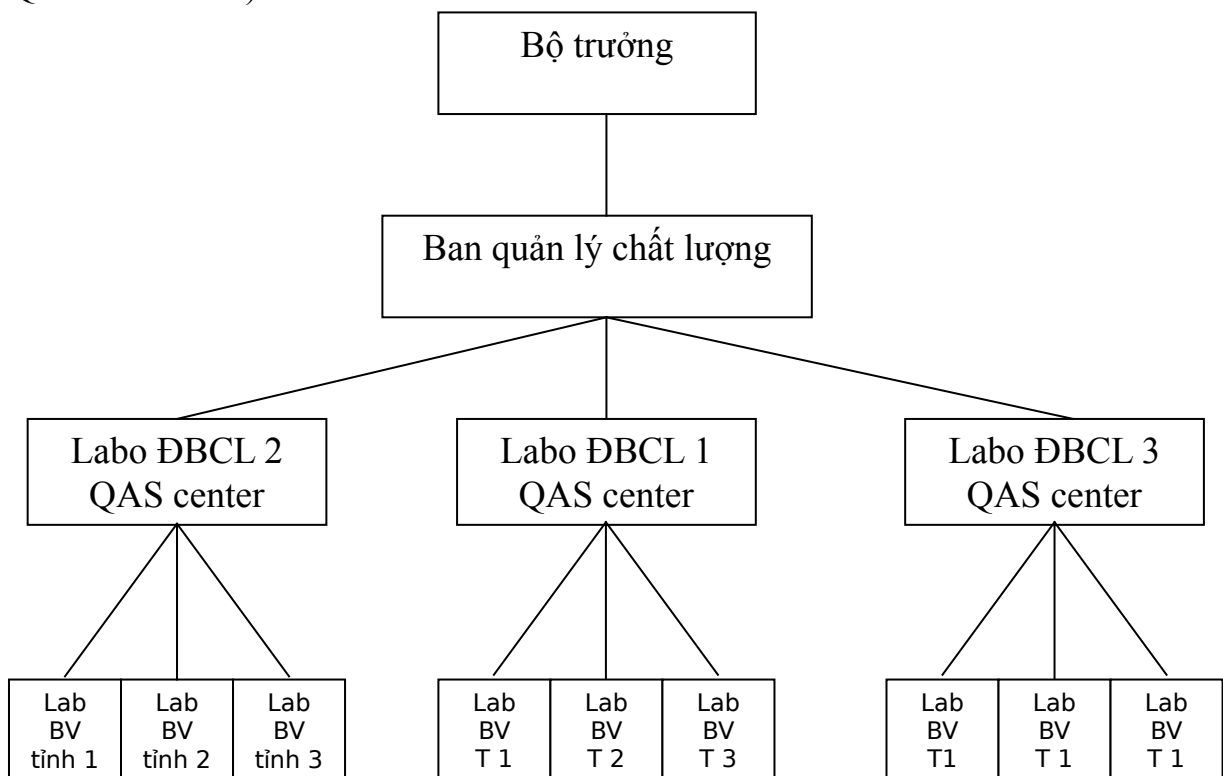
3.1. Mạng lưới đánh giá chất lượng ở vị trí nào trong hệ thống quản lý chất lượng?

Hệ thống quản lý chất lượng chỉ đạo triển khai các hoạt động đảm bảo chất lượng. Nhưng các hoạt động ấy đòi hỏi một cơ chế đánh giá định kỳ để phát hiện các yếu kém của các labo lâm sàng và sửa chữa kịp thời, tạo nên động lực cho sự không ngừng cải thiện chất lượng của mỗi lang, và sự phân hạng chất lượng của hệ thống xét nghiệm lâm sàng, làm cơ sở cho việc xét cấp tín chỉ hành nghề (accreditation) cho các lang (cả khu vực nhà nước và khu vực tư nhân).

Hoạt động đánh giá chất lượng (QAS) như vừa đặt ra trên đây phải được thực hiện theo cơ chế mạng lưới đánh giá chất lượng (QAS - Network). Mỗi QAS - Network được hình thành theo sơ đồ hình sao; có một Trung tâm đánh giá chất lượng (TTĐGCL, QAS centre) và các đơn vị thành viên nằm trong khu vực tác nghiệp của mỗi miền. Dự kiến QAS centre chính là các làng đảm bảo chất lượng (QA lab, lab of QA). Như vậy, các QA lao động thời là QAS centre nên vai trò chỉ đạo và quản lý chất lượng xét nghiệm được thể hiện qua vai trò tác nghiệp các hoạt động đánh giá chất lượng. Mô hình này vừa mang tính tiết kiệm vừa thể hiện tính hiệu lực và hiệu quả rõ rệt.

3.2. Sơ đồ hoá mạng lưới đánh giá chất lượng xét nghiệm (QAS - Network)

Sơ đồ dưới đây (H.3) thể hiện mối quan hệ giữa hệ thống quản lý xét nghiệm (quyền lực) với hệ thống tác nghiệp (mạng lưới đánh giá chất lượng QAS - Network):



H.3 QAS - Network trong mối quan hệ với QMS

Chú thích:

- Không màu: Hệ thốn QLCL (QMS)
- Màu đậm: Hệ thống đánh giá chất lượng

3.3. Mục tiêu của các kế hoạch đánh giá chất lượng xét nghiệm lâm sàng

Kế hoạch đánh giá xét nghiệm (QAS schemes) thể hiện hoạt động cụ thể của mạng lưới QAS (QAS - Network, hay EQAS - Network). Kế hoạch này có các mục tiêu sau đây:

- Đưa ra báo động về sự yếu kém có thể có trong thực hành của một labo và giúp đỡ lang ấy sửa chữa để cải thiện chất lượng.
- Thu thập thông tin về khả năng của các kỹ thuật phân tích trong một labo để giúp các nhà chuyên môn hay người lãnh đạo điều hành tốt hơn hoạt động kỹ thuật tại labo.
- Thu thập thông tin về các đặc tính của những phương pháp đặc biệt, các hoá chất và máy móc, và thực hiện việc hiệu chỉnh thích hợp.
- Xác định những labo xuất sắc để đưa họ tham gia vào công việc giáo dục và đào tạo.
- Thu thập thông tin phục vụ mục đích cấp giấy phép hành nghề hay cấp *tín* chỉ (accreditation) cho các labo.
- Đánh giá và theo dõi tác dụng của hoạt động đào tạo.

3.4. Trách nhiệm của các Trung tâm đánh giá chất lượng xét nghiệm lâm sàng (QAS - Centre, EQAS centre) và trách nhiệm của người tham gia kế hoạch đánh giá chất lượng.

3.4.1. Trách nhiệm của Trung tâm đánh giá chất lượng xét nghiệm lâm sàng.

- Lập kế hoạch thực hiện các đợt đánh giá, không dưới hai đợt trong một năm.
- Lựa chọn chất liệu (mẫu, huyết thanh) kiểm tra để phân phối. TTĐGCL có nhiệm vụ kiểm tra trước các chất liệu kiểm tra để đảm bảo các yêu cầu kỹ thuật.
- Xác định số lượng mẫu kiểm tra cho mỗi đợt
- Gửi các mẫu kiểm tra cho đơn vị tham gia, sao cho an toàn nhất về mọi mặt, kèm theo những chỉ dẫn cần thiết, và những nhận xét của người tham gia.
- Đánh giá mọi ý kiến báo cáo của người tham gia trong khoảng thời gian quy định.

- Xác định những giới hạn có thể chấp nhận của các kết quả nhận được của người tham gia. Sau đó, phải gửi báo cáo đánh giá kín của TTĐGCL cho từng đơn vị tham gia.

- Nghiên cứu những vấn đề của labo làm cho yếu kém về năng lực, và giúp đỡ họ. Khuyến cáo các labo trung tâm cung cấp nhân lực thích hợp, những trang thiết bị và máy móc thiết yếu cho labo.

- Thành lập một ban chuyên gia để cố vấn về mặt khoa học và tổ chức của các đợt đánh giá và về tác động cải thiện labo.

Trung tâm ĐGCL (QAS centre) nên là một bộ phận của một kế hoạch đánh giá chất lượng quốc tế (International EQAS scheme) để đảm bảo rằng nó thực hiện được những tiêu chuẩn cần phải đạt tới .

3.4.2. *Trách nhiệm của người tham gia*

- Viết bản thoả thuận và cam kết tham gia vào kế hoạch đánh giá chất lượng.

- Cam kết gửi báo cáo kết quả cho ban tổ chức QAS - scheme.

- Cam kết rằng mọi kết quả đã được thực hiện tại lang của mình, với các phương pháp kỹ thuật nêu trong báo cáo.

- Nên báo cáo kết quả kèm theo nêu rõ các điều kiện xét nghiệm, không tính toán để quy về điều kiện đặc biệt, dễ gây sai sót.

KẾT LUẬN

Với sự ra đời của Ban Chỉ đạo kiểm chuẩn Hoá sinh lâm sàng 06/0111998, và sự cho phép thành lập các Labo Kiểm chuẩn hoá sinh lâm sàng, hình ảnh của một hệ thống quản lý chất lượng (QMS) về hoá sinh lâm sàng của Ngành Y tế đã được phác hoạ. Tuy nhiên, vai trò chỉ đạo kiểm chuẩn Hoá sinh lâm sàng của nó trong những năm qua đang dần được phát huy. Tuy vậy, chúng ta còn vẫn còn thiếu một số điều kiện cho Ban chỉ đạo kiểm chuẩn thực hiện nhiệm vụ quản lý chất lượng của nó ngày càng toàn diện.

Chúng ta cần ban hành *quy chế về đảm bảo chất lượng các hoạt động cận lâm sàng*, xây dựng *tiêu chuẩn chất lượng của các làng cận lâm sàng*, và chỉ định ba khoa Hoá sinh có năng lực và uy tín đại diện cho y học cận lâm sàng của

ba miền Bắc, Trung, Nam làm nhiệm vụ các *Trung tâm đánh giá chất lượng* và đứng ra tổ chức *mạng lưới đánh giá chất lượng hoá sinh lâm sàng* ở ba khu vực.

Sự ra đời mạng lưới đánh giá chất lượng (QAS - Network) sẽ là công cụ đắc lực của hệ thống quản lý, chất lượng (QMS) để thực thi nhiệm vụ của mình.

Một cơ chế tài chính hợp lý đảm bảo duy trì hoạt động đánh giá chất lượng của mạng lưới này cũng cần được quy định.

Câu hỏi lượng giá: Chọn ý đúng nhất

Câu 1: Kết quả xét nghiệm đảm bảo chất lượng phải:

- a. Độ chính xác
- b. Độ xác thực
- c. Cả hai ý trên

Câu 2: Giai đoạn nào trong quá trình xét nghiệm gây sai số nhiều nhất:

- a. Trước phân tích
- b. Trong phân tích
- c. Sau phân tích

Câu 3: Chương trình đảm bảo chất lượng (QA) gồm các nội dung nào sau đây:

- a. Đánh giá quản lý xét nghiệm
- b. Hoạt động kiểm tra chất lượng
- c. Đánh giá kỹ năng xét nghiệm
- d. So sánh kết quả xét nghiệm
- e. Đánh giá mối quan hệ giữa kết quả xét nghiệm và bệnh nhân
- f. Giải quyết thắc mắc của lâm sàng
- g. Tất cả các nội dung trên.

Câu 4: Thực hiện chương trình QC của mỗi khoa xét nghiệm là:

- a. Hoạt động hàng ngày
- b. Hoạt động hàng tuần
- c. Hoạt động hàng tháng

Câu 5: Nội kiểm tra chất lượng là:

- a. Đánh giá chất lượng XN
- b. Là bao gồm các phương pháp thực hiện bởi phòng xét nghiệm để theo dõi trực tiếp tại labo, từ đó đưa ra quyết định kết quả xét nghiệm có đủ tin cậy hay không.

Câu 6; Ngoại kiểm tra chất lượng:

- b. Đánh giá chất lượng xét nghiệm

- c. Đánh giá năng lực của phòng xét nghiệm bởi một cơ quan có thẩm quyền phân tích độc lập

Câu 7: Đảm bảo chất lượng xét nghiệm là:

- a. Có ý nghĩa sống còn đối với phòng xét nghiệm
- b. Là thủ tục hành chính.